

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
JULIANA ZIMERMAN CIESLINSKI SOARES

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LECTINA LIGANTE DE MANOSE EM
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-
LABORATORIAL

CURITIBA
2015

JULIANA ZIMERMAN CIESLINSKI SOARES

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LECTINA LIGANTE DE MANOSE EM
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO: ASSOCIAÇÃO CLÍNICO-
LABORATORIAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Shirley Ramos da Rosa Utiyama. Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Iara Taborda de Messias-Reason.

CURITIBA

2015

Soares, Juliana Zimmerman Cieslinski

Concentrações séricas de lectina ligante de manose em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico: associação clínico-laboratorial / Juliana Zimmerman Cieslinski Soares – Curitiba, 2015. 121 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama

Coorientadora: Professora Dra. Iara Taborda de Messias-Reason

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. 2015.

Inclui bibliografia

1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. MBL. 3. Concentração. 4. SLEDAI. 5. SLICC. I. Utiyama, Shirley Ramos da Rosa. II. Messias-Reason, Iara Taborda de. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

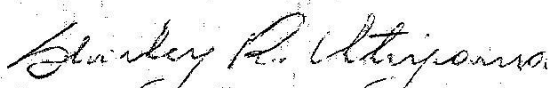
CDD 616.772

TERMO DE APROVAÇÃO


JULIANA ZIMERMAN CIESLINSKI SOARES

**Título: "CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE LECTINA LIGANTE
DE MANOSE EM PACIENTES COM LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO: ASSOCIAÇÃO
CLÍNICO-LABORATORIAL"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Análises Clínicas.


Profª. Dra Shirley Ramos da Rosa Utiyama
Orientadora


Profª. Dra. Marília Barreto Gameiro Silva
Faculdade Evangélica do Paraná


Profª. Dra Fabiana Antunes de Andrade
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 14 de dezembro de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha fonte de luz, coragem e serenidade.

À Professora Dra. Shirley Ramos da Rosa Utiyama, minha orientadora e exemplo de profissional, sempre muito atenciosa, organizada, competente e ética. Muito obrigada por acreditar em mim e por todos os seus ensinamentos.

À Professora Dra. Iara Taborda de Messias-Reason, pela coorientação, por suas preciosas contribuições, palavras de incentivo e atenciosa acolhida na equipe do laboratório.

À Dra. Thelma L. Skare, por compartilhar um pouco de seu vasto conhecimento e experiência. Obrigada pela paciência, disposição, presteza e por suas importantes sugestões.

Ao Professor Dr. Renato Nisihara, por sua atenção, sugestões, dicas, incentivo e por seu auxílio em diversas etapas deste estudo.

À Professora Dra. Angélica Boldt, por seu importante auxílio na análise estatística e por estar sempre muito disposta a colaborar.

À Farmacêutica Vanessa Picceli, por sua disposição para me auxiliar e pela convivência durante os anos de graduação.

Aos Gerentes do Banco do Brasil, Moacir Ribeiro de Lima e Urbano Erich Junge, por me permitirem conciliar as atividades acadêmicas e profissionais. Obrigada pelo incentivo, confiança e compreensão.

Ao meu esposo Moisés, com quem dividi cada alegria e dificuldade encontrada neste caminho, por seu amor e compreensão nos tantos momentos de preocupação e insegurança.

À minha família, por serem a base de tudo, pela fé e valores a mim repassados, pela confiança, compreensão e orações.

Aos amigos, colegas de trabalho e de laboratório, enfim, a todos que contribuíram em algum momento para que este objetivo fosse alcançado.

RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune multifatorial com amplo espectro de manifestações clínicas, que acomete predominante mulheres em idade reprodutiva. O Sistema Complemento (SC) tem importante contribuição na fisiopatogenia do LES através de suas 3 vias de ativação. A lectina ligante de manose (MBL) é a proteína central da via das lectinas e tem mostrado relação com as manifestações clínicas do LES. A concentração sérica de MBL é determinada por polimorfismos no gene *MBL 2* (cromossomo 10). O presente estudo teve por objetivo determinar as concentrações de MBL em pacientes com LES e compará-las com as de indivíduos do grupo controle, visando avaliar se há associação entre concentrações de MBL e a presença da doença. Buscou-se, ainda, avaliar a relação entre as concentrações de MBL com manifestações clínicas, atividade de doença e dano acumulado observado no LES. Foram analisadas amostras de soro de 195 pacientes com LES (180 mulheres e 15 homens) e de 145 indivíduos sadios (126 mulheres e 19 homens). Os grupos foram compostos por indivíduos afro e eurodescendentes, oriundos do Sul do Brasil, com média de idade de 39 anos. As concentrações séricas de MBL foram determinadas por ensaio de ELISA. A atividade da doença foi avaliada por meio do escore SLEDAI e o índice SLICC/ACR DI foi calculado para indicar o grau de dano tecidual irreversível. Na análise estatística foram empregados testes não paramétricos, teste exato de Fisher, qui-quadrado e regressão logística binária. Considerando os indivíduos com altas concentrações de MBL (≥ 2000 ng/mL), os pacientes apresentaram mediana significativamente superior àquela encontrada nos controles (3350 vs. 3000 ng/mL; $p=0,038$). Em relação ao gênero e etnia não houve diferença significativa entre os grupos. Dentre os pacientes com concentrações elevadas de MBL verificou-se aumento significativo na frequência daqueles com plaquetopenia ($p=0,007$, OR= 2,71, 95% IC= 1,32-5,55) e convulsão ($p=0,034$, OR= 2,61, 95% IC= 1,07-6,37). Por sua vez, nas concentrações intermediárias de MBL (100-2000 ng/mL), a ocorrência de plaquetopenia ($p=0,013$; OR= 0,40, 95% IC= 0,20-0,83) e convulsão ($p=0,031$; OR= 0,35, 95% IC= 0,14-0,91) foi significativamente menor, porém um risco aumentado para o aparecimento de *rash* malar ($p=0,013$; OR= 2,23, 95% IC= 1,18-4,21) foi detectado. Não foi encontrada associação entre as concentrações de MBL, o perfil sorológico e demais manifestações clínicas dos pacientes. Uma correlação positiva discreta entre a atividade da doença e as concentrações de MBL dos pacientes foi demonstrada. O maior grau de correlação foi obtido com concentrações acima de 3000 ng/mL ($p=0,016$ $r=0,373$). As concentrações de MBL também apresentaram discreta correlação com o dano acumulado irreversível observado nos pacientes com LES ($p=0,021$, $r=0,232$). Concluindo, as variações nas concentrações de MBL podem estar relacionadas com o desenvolvimento do LES na população em estudo e com a presença de manifestações clínicas como plaquetopenia, convulsão e *rash* malar. A proteína MBL ainda se mostrou promissora como marcador de atividade de doença e de dano acumulado observado no LES.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico, MBL, concentração, convulsão, plaquetopenia, *rash* malar, SLEDAI, SLICC/ACR DI.

ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a multifactorial autoimmune disease with a wide spectrum of clinical manifestations, which affects predominantly women of reproductive age. The Complement System (SC) has an important contribution to the pathogenesis of SLE through its three activation pathways. The mannose-binding lectin (MBL) plays a central role in lectin pathway and has been shown relation with the clinical manifestations of SLE. The serum concentration of MBL is determined by polymorphisms in the *MBL2* gene (chromosome 10). The present study aimed to determine the MBL levels in SLE patients and healthy controls, and to evaluate whether there is an association between these levels and the presence of the disease. In addition, we have also evaluated the relationship between the concentrations of MBL with clinical manifestations, disease activity and cumulative damage observed in SLE patients. Serum samples were analyzed in 195 SLE patients (180 women and 15 men) and 145 healthy individuals (126 women and 19 men), african and euro-descendants from Southern Brazil, with 39 years mean age. MBL levels were determined by ELISA. Disease activity and organ damage were measured using the indices SLEDAI and SLICC/ACR DI, respectively. Statistical analysis was performed with nonparametric tests, Fisher's exact test, chi-square and binary logistic regression. Considering individuals with high MBL concentrations (≥ 2000 ng / mL), patients had significantly higher median value than controls (3350 vs. 3000 ng / mL, $p = 0.038$). In relation to gender and ethnicity, we have not found significant difference between groups. Among patients with high concentrations of MBL, it was observed a significant increase in frequency of thrombocytopenia ($p = 0.007$, OR= 2.71, 95% IC= 1.32-5.55) and seizure ($p = 0.034$, OR= 2.61, 95% IC= 1.07-6.37). On the other hand, the occurrence of thrombocytopenia or seizure were significantly lower in patients with intermediate MBL levels ($p = 0.013$; OR= 0.40, 95% IC= 0.20-0.83; e $p = 0.031$; OR= 0.35, 95% IC= 0.14-0.91, respectively), but an increased risk for the development of malar rash ($p = 0.013$; OR= 2.23, 95% IC 1.18 – 4.21) was detected. No association was found between MBL levels, serological profile and other clinical manifestations of lupus. A slight positive correlation between disease activity and concentrations of MBL has been demonstrated - The highest degree of correlation was obtained with concentrations up to 3000 ng/ml ($r = 0.016$ $p = 0.373$). The MBL concentrations also had weak correlation with irreversible cumulative damage observed in SLE patients ($r = 0.232$, $p = 0.021$). In conclusion, changes in MBL concentrations may be related to development of SLE in the study population and with presence of clinical manifestations such as thrombocytopenia, seizures and malar rash. MBL protein seems be a disease activity and cumulative damage marker in SLE.

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus, MBL, concentration, thrombocytopenia, seizure, malar rash, SLEDAI, SLICC/ACR DI.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FISIOPATOGENIA DO LES	19
FIGURA 2 - POLIMORFISMOS ASSOCIADOS COM A AUTOIMUNIDADE SISTÊMICA OBSERVADA NO LES.....	24
FIGURA 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DO LES.	26
FIGURA 4 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO.	34
FIGURA 5 - GENE <i>MBL2</i>	37
FIGURA 6 - DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL.....	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES E CONTROLES.....	51
TABELA 2 - PERFIL CLÍNICO E SOROLÓGICO DOS PACIENTES COM LES.....	51
TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES DE MBL (MEDIANA E IQR) NOS PACIENTES E CONTROLES DE ACORDO COM O GÊNERO E ETNIA	54
TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES E CONTROLES DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES DE MBL	56
TABELA 5 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MBL DE ACORDO COM A IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA.....	57
TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DE MBL DE ACORDO COM AS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES	58
TABELA 7 - FREQUÊNCIA DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE ACORDO COM A CONCENTRAÇÃO DE MBL DOS PACIENTES.	59
TABELA 8 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL DE ACORDO COM AS CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS DOS PACIENTES	62
TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES EM FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DE MBL DE ACORDO COM AS CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS	63
TABELA 10 -CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O SLICC/ACR DI DOS PACIENTES.....	65

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR GÊNERO (A) E FAIXA ETÁRIA (B).....	50
GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS CONTROLES POR GÊNERO (A) E FAIXA ETÁRIA (B).....	50
GRÁFICO 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES.....	52
GRÁFICO 4 - PERFIL SOROLÓGICO DOS PACIENTES COM LES.....	53
GRÁFICO 5 – ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES ELEVADAS DE MBL NOS GRUPOS EM ESTUDO (≥ 2000 ng/mL).	54
GRÁFICO 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES DE MBL	55
GRÁFICO 7 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL NOS PACIENTES DE ACORDO COM A IDADE DE INICIO DA DOENÇA.....	56
GRÁFICO 8 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL DE ACORDO COM A PRESENÇA DE MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS.	57
GRÁFICO 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DE MBL DE ACORDO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE PLAQUETOPENIA E CONVULSÃO	61
GRÁFICO 10 - CORRELAÇÕES ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O ESCORE SLEDAI DOS PACIENTES.	64
GRÁFICO 11 - CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O ESCORE SLICC/ACR DI DE PACIENTES QUE APRESENTARAM PELO MENOS UM DANO IRREVERSÍVEL	65

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Acl- Anticardiolipina
ACR – American College Rheumatology
ANA – Anticorpo Anti-nuclear
AVC- Acidente vascular cerebral
BCR – *B cell receptor*
BILAG- *British Isles Lupus Assessment Group*
CRD – Domínio de reconhecimento de carboidrato
DAMPs – Padrões moleculares associados ao dano
DC- *Dendritic cell*
ds-DNA – Anticorpo anti DNA de dupla hélice
EBV – Epstein-Bar
ECLAM – European Consensus Lupus Activity Measure
EDTA- *Ethylenediamine tetraacetic acid*
ELISA – Enzima imunoensaio
ENA – Antígenos nucleares extraíveis
FAN – Fator anti-nuclear
HC – Hospital de Clínicas
HLA - Antígeno leucocitário humano
IC- Intervalo de confiança
IFN- Interferon
IL – Interleucina
IQR – Intervalo interquartilico
LAC- anticoagulante lúpico
LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico
LN – Lúpus Neonatal
MAC – *Membrane attack complex*
MASP – *Mannan-binding lectin serine peptidase*
MBL – Lectina ligante de manose
MHC – Complexo principal de histocompatibilidade
NPSLE- *Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus*
NK – *Natural Killer*

OD- *Odds ratio*

PAMPs – Padrões moleculares associados a patógenos

PCR – Proteína C reativa

pDC- *Plasmacytoid dendritic cell*

PNPP- *para-Nitrophenylphosphate*

RNP – Ribonucleoproteína

SAF – Síndrome antifosfolípide

SC – Sistema complemento

SCLE – Lúpus Eritematoso Cutâneo Subagudo

SDI – Systemic Damage Index

SLAM – *Systemic Lupus Activity Measure*

SLEDAI – *Disease Activity Index*

SLICC – *Systemic Lupus Internacional Collaborating Clinics*

SNC – Sistema nervoso central

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único

SSB/La – Anticorpo anti-La

SSA/Ro – Anticorpo anti-Ro

TFN – Fator de necrose tumoral

TLR – *Toll like receptor*

TRIS- Hidroximetil aminometano

UFPR – Universidade Federal do Paraná

UV- Ultravioleta

VHS – velocidade de hemossedimentação

VL – Via da lectinas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.2 OBJETIVO GERAL	15
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.....	16
2.1.1 Histórico da doença.....	16
2.1.2 Características Gerais	17
2.1.2 Fisiopatogenia do LES	19
2.1.3 Fatores de patogenicidade no LES	21
2.1.4 Caracterização Genética	23
2.1.5 Manifestações Clínicas.....	25
2.1.6 Diagnóstico do LES e anticorpos anti-nucleares	28
2.1.7 Ferramentas para monitoramento da doença	30
2.2 SISTEMA COMPLEMENTO.....	32
2.2.1 Aspectos Gerais	32
2.2.2 Vias de ativação do complemento.....	33
2.2.3 Lectina Ligante de Manose (MBL).....	36
2.2.4 O Sistema Complemento e o LES.....	38
2.2.5 A Via das Lectinas e o LES	41
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.1 DESENHO DO ESTUDO.....	44
3.2 CASUÍSTICA.....	44
3.3 METODOLOGIA.....	45
3.3.1 Obtenção, processamento e caracterização das amostras	45
3.3.2 Determinação das concentrações séricas de MBL.....	46

3.3.3 Análise Estatística	48
4 RESULTADOS.....	49
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE PACIENTES EM ESTUDO E DO GRUPO CONTROLE	49
4.2 CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL.....	53
4.2.1 Comparação entre os pacientes com LES e o grupo controle.	53
4.2.2 Associação entre as concentrações de MBL e as características clínicas e sorológicas dos pacientes.	56
4.2.3 Correlação entre as concentrações séricas de MBL dos pacientes com LES e os índices SLEDAI e SLICC/ACR DI.....	63
5 DISCUSSÃO	67
6 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS.....	79
APÊNDICES E ANEXOS.....	92

1 INTRODUÇÃO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune multifatorial caracterizada pela produção de uma ampla variedade de autoanticorpos contra componentes intracelulares, incluindo ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA), histonas e nucleossomos, e uma alta reatividade de proteínas plasmáticas a antígenos nucleares. Trata-se de uma doença de origem multigênica que acomete indivíduos geneticamente predispostos, sob a influência de fatores ambientais (GATTO et al., 2013). O curso da doença apresenta períodos de atividade e remissão. Os pacientes acometidos apresentam sinais clínicos diversos que podem variar desde manifestações brandas, como *rash* cutâneo ou artrite não erosiva, até grave comprometimento neuropsiquiátrico e renal (LI et al., 2013).

Os dados de prevalência e incidência refletem as diferenças étnicas e geográficas entre as populações. A incidência na América do Sul, América do Norte e Europa varia entre 2 a 8 casos por 100.000,00 habitantes/ ano. O LES é mais frequente em afrodescendentes da América e latino-americanos mestiços do que em caucasianos, e a morbidade também é maior naqueles indivíduos (GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012).

A resposta imune do hospedeiro frente a antígenos estranhos ocorre inicialmente via sistema inato, seguida pela resposta adaptativa. O sistema complemento (SC) representa um conjunto composto por aproximadamente 40 proteínas plasmáticas e de superfície celular, fundamentais para o desenvolvimento da resposta inata (MERLE et al., 2015). Encontra-se bem descrita a participação do SC na opsonização e fagocitose de microrganismos, ativação de células inflamatórias e na citólise mediada pela formação do complexo de ataque à membrana (MAC) (ABBAS, 2011).

O SC pode ser ativado por três diferentes vias: clássica, alternativa e via das lectinas. A proteína central envolvida na via das lectinas é a lectina ligante de manose (MBL) que reconhece resíduos de açúcar na superfície celular de microrganismos ou estruturas modificadas. Trata-se de umas das proteínas mais versáteis do sistema imune inato e, entre suas principais funções, estão o reconhecimento e remoção de microrganismos e células apoptóticas, e a modulação da produção de citocinas pró- inflamatórias (BOLDT et al., 2012).

Em relação às concentrações séricas de MBL nos indivíduos, há uma variação interindividual determinada por polimorfismos na região promotora e exon 1 do gene *MBL2*, localizado no cromossomo 10. Esses polimorfismos podem tanto influenciar a concentração sérica de MBL, como causar alterações em sua polimerização e perda de funcionalidade (TAKAHASHI et al., 2004).

Em doenças autoimunes como o LES a homeostasia de determinadas proteínas do SC pode estar comprometida, ocasionando muitas vezes, o reconhecimento e ataque de estruturas próprias, que resultam no desenvolvimento de processos patológicos (CHEN ET AL., 2010). A MBL representa uma dessas proteínas. A deficiência de MBL pode estar relacionada com a desregulação apoptótica observada no LES, enquanto que os níveis elevados dessa lectina podem exacerbar a resposta inflamatória no tecido renal ocasionando nefrite lúpica e outras manifestações clínicas (PANDA et al., 2012; GATTO et al., 2013).

Uma vez detectados os sinais característicos do LES em um paciente, o diagnóstico precoce e acompanhamento adequado do mesmo representam grandes desafios para o clínico. Os critérios publicados em 1982 e em 1997 no American College of Rheumatology (ACR) (ARNETT et al., 1988 e 1997) apresentam dificuldades na visão prática, uma vez que o desenvolvimento de 4 a 11 critérios necessários para definir o diagnóstico pode levar anos para aparecer em alguns pacientes. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de testes laboratoriais ou biomarcadores que permitam um diagnóstico precoce e com elevada acurácia (AHEARN ET AL., 2012). Para o monitoramento do paciente estão disponíveis ferramentas validadas, dentre as quais os índices SLICC/ACR DI (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology damage index for Systemic Lupus Erythematosus*), que mensura os danos irreversíveis adquiridos após o diagnóstico do LES, e o SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), uma escala padronizada que permite avaliar a atividade da doença.

Alguns estudos têm apontado a proteína MBL como um potencial marcador da atividade da doença em pacientes com LES (PANDA et al., 2012). Portanto, pesquisas que permitam avaliar as alterações da mesma em populações maiores e com diferentes origens étnicas, por meio da determinação de suas concentrações séricas, podem contribuir significativamente para os avanços no diagnóstico e tratamento do LES, assim como na maior compreensão da fisiopatogenia da doença.

1.2 OBJETIVO GERAL

Investigar as concentrações séricas da lectina ligante de manose (MBL) em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico e associá-las com achados clínicos e laboratoriais da doença.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as concentrações séricas de MBL em pacientes com LES e indivíduos do grupo controle, visando avaliar se há associação entre essas e o desenvolvimento da doença na população estudada;
- Investigar a relação entre as concentrações séricas de MBL e características clínicas, sorológicas e demográficas apresentadas pelos pacientes;
- Investigar a correlação entre as concentrações séricas de MBL, dados de atividade da doença e danos irreversíveis posteriores ao diagnóstico de LES;

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

2.1.1 Histórico da doença

Na Idade Média o termo “lúpus” (lobo em latim) era utilizado para descrever lesões erosivas na pele semelhantes a uma mordida de lobo. O termo “asa de borboleta” para descrever o *rash* malar foi utilizado primeiramente em 1846 e, em 1856, o termo “lúpus eritematoso” foi empregado pela primeira vez em uma publicação. Moris Kaposi foi o primeiro a reconhecer o caráter sistêmico da doença com manifestações viscerais. O teste falso positivo para sífilis passou a ser utilizado no diagnóstico em 1909. Quanto às manifestações clínicas, em 1923 Libman e Sacks descreveram a endocardite, e em 1935 foram descritas as alterações glomerulares (GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012).

A descoberta das células “LE” por Hargraves, Richmond e Morton, em 1948, marcou o início da era moderna para o Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Essa técnica foi utilizada por muitos anos como marcador sorológico do LES, sendo retirada dos critérios de diagnóstico somente na revisão de 1997 (HOCHBERG, 1997; GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012).

Um novo avanço no diagnóstico do LES foi a descrição do fator anti-nuclear (FAN), pela técnica de imunofluorescência indireta, em 1957. Alguns anos depois passou-se a utilizar como substrato as células HEp-2, o que ampliou significativamente o número de padrões de FAN reconhecidos. Este teste passou a ser muito útil, no entanto, apenas com o padrão de fluorescência nem sempre era possível identificar o tipo de autoanticorpo presente, fato que exigiu novamente o aprimoramento das técnicas laboratoriais (DELLAVANCE et al., 2001). Ainda em 1957, anticorpos anti-dsDNA foram observados no soro de pacientes com LES. A partir de então, os estudos que foram realizados contribuíram muito para o entendimento de vários aspectos do sistema imune e do controle da tolerância imunológica, e para a definição dos atuais critérios de diagnóstico do LES pelo Colégio Americano de Reumatologia (REKVIK, 2015).

2.1.2 Características Gerais

O LES é uma doença cuja etiologia ainda não está completamente elucidada. Sabe-se que múltiplos fatores estão envolvidos, principalmente fatores genéticos, endócrinos e ambientais (ÁBEL; AGNELLO, 2004). Entre suas principais características está o caráter multissistêmico e o amplo espectro de gravidade, podendo variar de leves manifestações até sérias complicações, como por exemplo, nefrite lúpica e doenças neuropsiquiátricas (GATTO et al., 2013).

Uma das hipóteses para a etiologia da doença considera a presença de células apoptóticas anormais, com capacidade de romper a auto-tolerância que o sistema imune possui, e a incapacidade funcional dos componentes iniciais do sistema complemento (SC) de remover os corpos apoptóticos. Outra hipótese considera que esses componentes do SC são essenciais para a remoção dos complexos imunes observados no LES e, portanto, suas deficiências favoreceriam o aparecimento da doença. No entanto, como existem outras vias do complemento com capacidade para remover esses complexos imunes, novos estudos, mais esclarecedores são necessários (ÁBEL; AGNELLO, 2004).

Além da sintomatologia típica, o paciente com LES apresenta maior susceptibilidade às infecções oportunistas, muitas vezes como consequência do tratamento medicamentoso que inclui drogas imunossupressoras e imunomoduladoras. Tais infecções são preocupantes, pois mimetizam os sinais de exacerbação do LES, podendo confundir o diagnóstico e direcionar para um tratamento incorreto. Foi observado aumento no número de mortes por LES associado às infecções, como pneumonia e septicemia, principalmente em países em desenvolvimento (MOK et al., 2007; NAVARRA; LEYNES, 2010; SOUZA et al., 2012).

A mortalidade dos pacientes com LES é cerca de 3 a 5 vezes maior do que a da população geral e está relacionada à atividade inflamatória da doença, especialmente quando há acometimento renal e do sistema nervoso central (SNC), ao maior risco de infecções graves decorrentes da imunossupressão e, tardiamente, às complicações da própria doença e do tratamento, sendo a doença cardiovascular um dos mais importantes fatores de morbidade e mortalidade dos pacientes. A taxa

de sobrevivência dos pacientes é superior a 90% nos primeiros 5 anos e próxima de 80% entre 15 e 20 anos após o diagnóstico (PONS-ESTEL et al., 2010) .

O LES acomete indivíduos no mundo todo, mas estudos epidemiológicos mostram maior incidência e prevalência em determinados países e grupos étnicos. A doença é de 2 a 4 vezes mais frequente entre populações não brancas (PONS-ESTEL et al., 2010). Também se observa variação entre os gêneros e faixas etárias, sendo que mulheres jovens, em idade reprodutiva, representam 80 a 90% dos pacientes, mas a doença tende a ser mais grave em homens e crianças (GATTO et al., 2013). Entre 15 a 20% dos casos, a doença é detectada ainda na infância, com manifestações iniciais mais graves e de aparecimento mais rápido, comparadas àquelas observadas em adultos (BORCHERS et al., 2010).

Borchers *et al* (2010) compararam estudos de incidência do LES realizados entre 1982 a 2001 em vários países, inclusive no Brasil, e constataram uma alta incidência de casos neste país (8,7/ 100.000 habitantes ao ano) comparado a outros países como Dinamarca e Grécia (1,0 e 1,9/ 100.000 habitantes, respectivamente), ambos com populações de etnia variada. Incidência maior foi observada apenas no Reino Unido, em populações de origem africana (entre 11,9 e 31,9/ 100.000) e asiática (entre 4,1 a 15,2/ 100.000). No mesmo estudo comparativo, o autor pôde concluir que os Europeus e seus descendentes, em várias partes do mundo, têm a incidência mais baixa de LES entre todos os grupos étnicos (BORCHERS et al., 2010). No Brasil, são poucos os estudos epidemiológicos. Segundo dados da Sociedade Brasileira de Reumatologia, em 2011 estimou-se que havia aproximadamente 65 mil pessoas com lúpus no país, sendo a maioria mulheres em idade reprodutiva (1 a cada 1700 mulheres) (SBR, 2011).

No Brasil, a Portaria nº 100, de 7 de fevereiro de 2013 do Ministério da Saúde define o Protocolo Clínico e as Diretrizes Nacionais para diagnóstico, tratamento e acompanhamento dos indivíduos com lúpus eritematoso sistêmico no país. O tratamento tem como base três classes de medicamentos: anti-maláricos (cloroquina e hidroxicloroquina) para impedir a progressão da doença, os glicocorticóides para o controle da atividade da doença e os imunossupressores (Azatioprina, Metotrexato e Ciclofosfamida e Micofenolato Mofetil) como poupadores de glicocorticóides.

2.1.2 Fisiopatogenia do LES

A fisiopatogenia do lúpus ainda não está totalmente elucidada, mas sabe-se que a principal característica imunológica é a produção descontrolada de autoanticorpos contra constituintes nucleares como histonas, DNA, ribonucleoproteínas, mas também contra proteínas citoplasmáticas de neutrófilos, levando a uma excessiva formação de imunocomplexos, os quais se depositam em diversos tecidos, causando inflamação e dano tecidual. Duas vias de morte celular seriam as responsáveis pela liberação dos autoantígenos na circulação: a apoptose celular, um evento bem descrito há anos e fundamental na homeostasia celular, e a netose, forma especializada de morte dos neutrófilos descrita somente na última década (CASTRO et al., 2008; PIETERSE; VLAG, VAN DER, 2014).

A fisiopatogenia do LES pode ser dividida basicamente em duas fases (FIGURA 1):

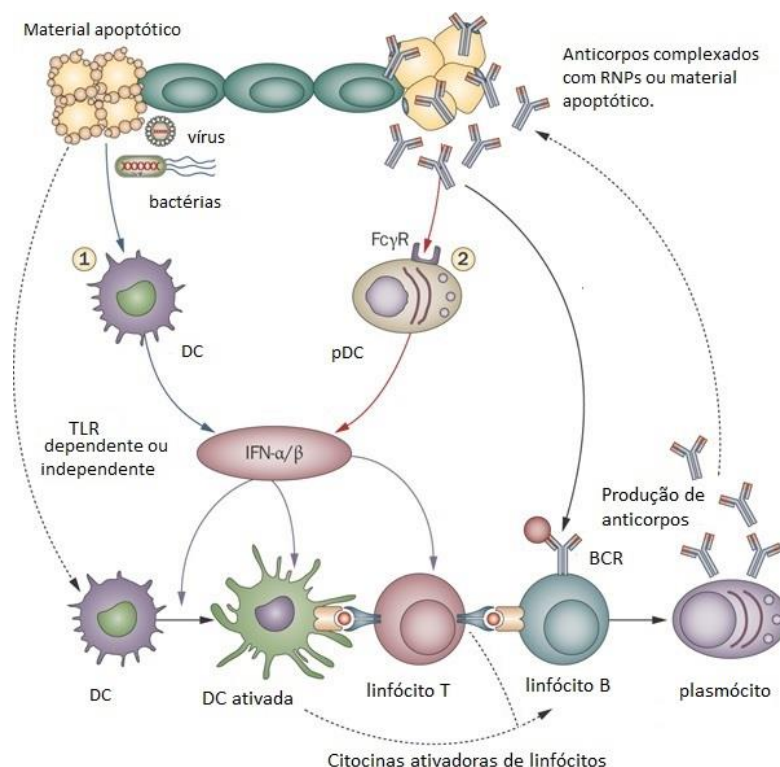


FIGURA 1 - FISIOPATOGENIA DO LES

FONTE: Adaptado de (THEOFILOPOULOS et al., 2010)

NOTA: RNPs: ribonucleoproteínas; DC: célula dendrítica; pDC: célula dendrítica plasmocitoide; Fc γ R: receptor para anticorpo; IFN α/β : interferon tipo α ou β ; TLR: receptor do tipo Toll like; BCR: receptor de célula B.

Na primeira, o material proveniente de células em apoptose (DAMPs) é reconhecido por receptores das células dendríticas imaturas (receptores TLR), e estas são estimuladas a produzirem interferon alfa (IFN- α), o qual causará a maturação da célula dendrítica e eficiente apresentação de autoantígenos para os linfócitos T nos linfonodos, favorecendo assim a maturação de linfócitos T e B autoreativos. O interferon alfa tem ação sobre linfócitos T e B, células endoteliais, neuronais e renais, com efeito pró-inflamatório (GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012).

Na segunda fase, os linfócitos B que sofreram maturação e expansão clonal vão produzir anticorpos capazes de se ligarem à proteínas associadas ao RNA intracelular, ou ainda serem reconhecidos por receptores específicos em células dendríticas plasmocitoides. Assim, há mais uma estimulação da elaboração de interferon pelas células dendríticas e estimulação das células B a produzirem mais anticorpos pela ligação do antígeno direto em receptores BCR dos linfócitos B, mantendo, desta forma, a continuidade da resposta imune (GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012).

No desenvolvimento do LES cinco fatores principais estão inter-relacionados: contribuições genéticas e epigenéticas, células B e T anormais, apoptose desregulada e remoção deficiente dos corpos apoptóticos, produção e remoção anormal de autoanticorpos e imunocomplexos, e danos teciduais. (GATTO et al., 2013; SCIASCIA et al., 2013).

Em pacientes com LES, os linfócitos B e T apresentam múltiplas anormalidades no que se refere à sinalização, possivelmente decorrentes de alterações genéticas e epigenéticas, resultando em uma intrínseca hiperatividade e hiperresponsividade dessas células. A função de células T *helper* está aumentada com diminuição da atividade das células T supressoras. A produção de IL-2 pelas células T está suprimida e vários interferons anormais são produzidos (GATTO et al., 2013).

As bases epigenéticas referem-se às mudanças na expressão dos genes, sem envolver mudanças na sequência do DNA. Essas alterações podem ser provocadas por fatores ambientais que afetam o sistema imune. No LES algumas formas de alterar a expressão gênica já foram detectadas como: anormalidades na metilação do DNA, modificação de histonas e interferência em microRNAs de interferência. Alguns pacientes apresentaram baixos níveis de dimetiltransferase,

uma enzima encontrada em células T responsável pela metilação do DNA. Assim, esses pacientes apresentaram DNA hipometilado na região reguladora da expressão gênica e os genes que atuam na imunidade não são silenciados. (GATTO et al., 2013).

Deficiências dos componentes do complemento C1q, C2, C4 predisõem ao LES, pois têm importante função na remoção dos corpos apoptóticos e imunocomplexos. C1q é considerado o maior fator de risco para a doença, pois sua deficiência foi observada em mais de 90% dos casos de doenças reumáticas, seguido por C4 e C2 (75% e 10%, respectivamente). Observa-se no LES uma lentidão na remoção de complexos imunes formados. Este fato está relacionado tanto a deficiências herdadas ou adquiridas de proteínas do complemento, assim como com a deficiência de receptores do mesmo das superfícies celulares, entre as quais as deficiências de receptores de C3b (CR1) na superfície dos eritrócitos. Deficiências em C5 e C8 também têm sido relacionadas com LES (CASTRO et al., 2008; SARMA; WARD, 2011). O sistema complemento tem uma importante função no processo fisiopatológico do LES (LEFFLER et al., 2014). Sua participação será descrita detalhadamente no item 2.2.

2.1.3 Fatores de patogenicidade no LES

Sabe-se que além da predisposição genética, outros fatores podem favorecer o aparecimento do LES, incluindo fatores hormonais e ambientais como a exposição aos raios UV, medicações, tabaco, poluentes. O tabaco tem sido associado ao aumento do número de *flares* cutâneos, provavelmente por diminuir a eficácia dos antimaláricos. Sílica e mercúrio também foram descritos entre os fatores ambientais, a sílica pode aumentar a produção de IL-1 e TNF α , e o mercúrio de origem orgânica ou inorgânica, pode induzir a produção de anticorpos anti-nucleares e o estresse oxidativo em células T, gerando espécies reativas de oxigênio e aumento do processo apoptótico (MAK; TAY, 2014).

Algumas drogas como a procainamida, hidralazina e quinidina podem causar uma variante do lúpus cujos sinais clínicos limitam-se à pele e articulações, sendo raras manifestações renais e neurológicas. Recentemente, os anti-TNF α também entraram na lista de causas iatrogênicas dessa doença. Uma infecção viral

antecedente também pode desencadear o lúpus. Estudos têm reportado a associação do vírus Epstein Bar (EBV) com o início da doença (RAHMAN; ISENBERG, 2008; LISNEVSKAIA et al., 2014)

A luz ultravioleta (UV), especificamente os raios UV-A1 e UV-B, podem induzir a exacerbação do LES, dependendo da intensidade da exposição do paciente a esses raios. A luz UV, em concentrações intermediárias e altas, induz a apoptose e/ou necrose dos queratinócitos, e a liberação de muitos autoantígenos na circulação, acompanhados por citocinas pró-inflamatórias. Assim, é desejável que os pacientes com LES evitem a exposição à luz solar, no entanto, esta restrição pode ocasionar deficiência de vitamina D. Alguns estudos já mostraram associação entre deficiência de vitamina D e uma maior atividade da doença, além de sua importância na regulação da resposta inata e adaptativa. (MAK; TAY, 2014).

Como 90% dos pacientes com lúpus são do sexo feminino considera-se que os hormônios exerçam influência na predisposição, porém também é possível que hormônios masculinos ofereçam alguma proteção ou ainda que os genes do cromossomo X exerçam algum efeito. (RAHMAN; ISENBERG, 2008). Em relação aos fatores hormonais, os estrógenos em geral são imunoestimulantes em doses fisiológicas, pois induzem a expansão clonal e a proliferação de células B. Em doses mais elevadas, os estrógenos parecem inibir a produção de interleucina-2, o que teoricamente, ocasionaria a inibição da resposta Th1. Assim, mulheres em idade reprodutiva ou sob suplementação hormonal estariam mais susceptíveis ao LES (MAK; TAY, 2014). Na prática, não foi observado maior risco de ativação da doença em pacientes com LES que estavam utilizando contraceptivos orais, enquanto aquelas que estavam em terapia de reposição hormonal apresentaram um risco leve a moderado (PETRI et al., 2005; BUYON et al., 2005).

Diferentes genes, juntamente com os efeitos modificadores do ambiente provavelmente influenciam o fenótipo da doença. Portanto interações gene-gene e gene-ambiente dificultam a interpretação de resultados obtidos em estudos, assim como fatores epigenéticos e alterações na estrutura do DNA são de grande importância na patogênese do LES (CASTRO et al., 2008).

2.1.4 Caracterização Genética

Quanto à questão genética sabe-se que há mais de 30 associações genéticas relacionadas ao LES, as quais envolvem genes que codificam proteínas atuantes em vias patogênicas chaves, como a apoptose, remoção dos corpos apoptóticos e complexos imunes, resposta imune inata e adaptativa, produção de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão. A identificação de variantes gênicas em pacientes é relativamente comum e pode ser causa do aumento da susceptibilidade à doença (RAHMAN; ISENBERG, 2008; GATTO et al., 2013).

A resposta de linfócitos T frente a antígenos ocorre quando receptores localizados na superfície dessas células reconhecem um antígeno apresentado por peptídeos MHC na superfície de células apresentadoras de antígenos, como por exemplo, células B e macrófagos. Os tipos de peptídeos disponíveis para apresentar os antígenos são determinados pelo genótipo do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (RAHMAN; ISENBERG, 2008). Genes MHC têm sido relacionados ao LES, principalmente *HLA-A1*, *B8*, *HLA-DR2* e *HLA-DR3*, porém apenas o *HLA DR2* foi confirmado como um alelo de susceptibilidade ao LES (GRAHAM et al., 2002; CASTRO et al., 2008). Mais recentemente algumas associações específicas foram descritas entre o LES e uma pequena região de classe II contendo antígenos leucocitários humanos (*HLA*) – *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*. Também foi descrita associação entre o LES e uma variante funcional do gene *SKIV2L* na região classe III, confirmando influência independente de genes tanto da região II como da região III (GATTO et al., 2013).

Relações entre sinais clínicos e alguns *loci* individuais foram esboçadas: *HLA DRB1* com doença renal e *ITGAM CR3* e artrite. Os genes de classe III do MHC codificam proteínas do complemento e várias citocinas, algumas das quais estão associadas ao LES. Moléculas HLA classe II tem importante função na produção e especificidade de anticorpos, e alterações em genes dessa região podem resultar na formação dos autoanticorpos que caracterizam o LES; o gene *HLA-D* parece ser o *locus* responsável por este processo e os haplótipos *HLA-DR2* e *HLA-DR3* talvez exerçam a principal função (GATTO et al., 2013).

Vários genes que codificam proteínas importantes para a função das células T e B têm sido considerados candidatos à susceptibilidade ao LES ou às suas manifestações clínicas (AZEVEDO, DE et al., 2014). Outros polimorfismos também

têm sido descritos em genes envolvidos em várias etapas do mecanismo fisiopatológico do LES como *PDCD1*, *C4AQ0* (deficiência parcial de C4), *CTLA-4*, em genes que codificam os receptores do tipo $Fc\gamma$ e citocinas, e em genes que atuam nas vias de sinalização do Interferon α (polimorfismos no *gene IRF5*, *IRF7*, *TYK2* e *STAT4* (CASTRO et al., 2008). (FIGURA 2)

Polimorfismos em genes que codificam citocinas como IL-6 (interleucina 6), IL8, IL-10, TNF- α (fator de necrose tumoral) e IFN- γ (interferon γ), localizados dentro de regiões promotoras, normalmente polimorfismos em um único nucleotídeo (SNP), tem sido descritos como causadores de alterações na transcrição do gene, cujo resultado é uma grande variação na produção dessas citocinas, variação que parece influenciar no aparecimento do LES e na gravidade de suas manifestações. O IFN- γ é uma citocina chave que controla a resposta imune dependente de Th-1, sendo que concentrações elevadas desta citocina são encontradas em pacientes com LES (SILVA, DA et al., 2014).

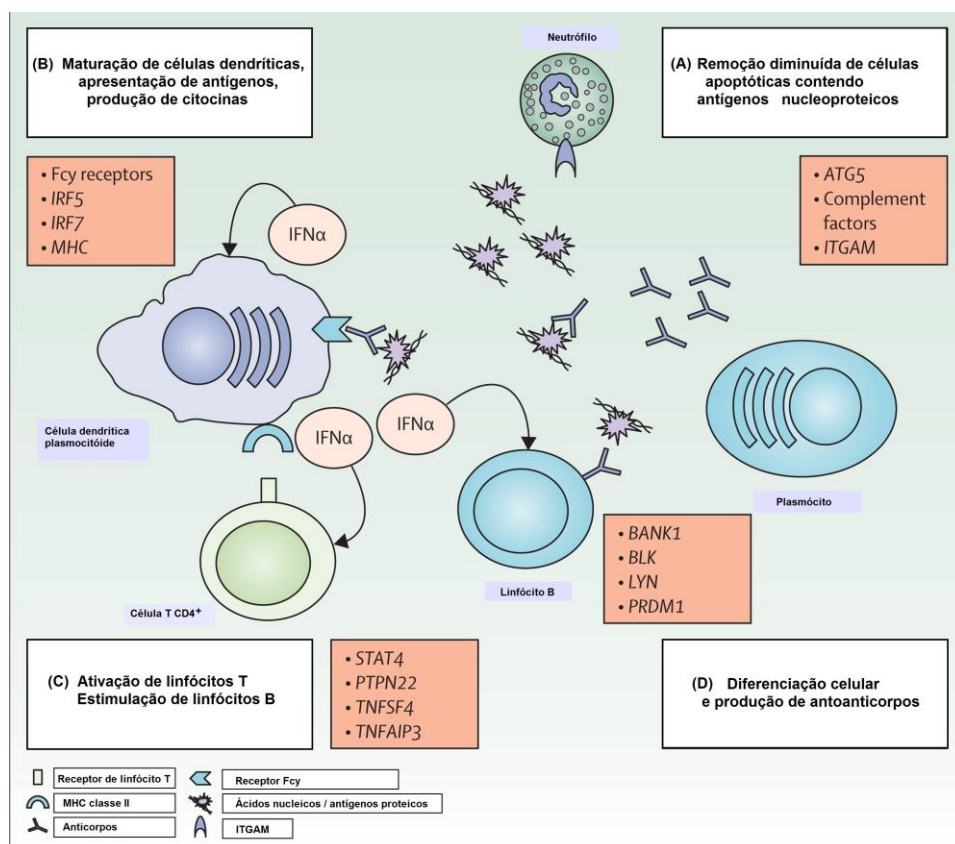


FIGURA 2 - POLIMORFISMOS ASSOCIADOS COM A AUTOIMUNIDADE SISTÊMICA OBSERVADA NO LES.

FONTE: adaptado de (WAHREN-HERLENIUS; DÖRNER, 2013)

2.1.5 Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas do LES variam muito de um paciente para outro e dependem principalmente do tipo de anticorpo presente, dos órgãos, células ou produtos das células atingidos e da capacidade do organismo corrigir essas alterações. Diversos tipos de lesões cutâneas (pele e mucosas) podem ocorrer no lúpus (FIGURA 3). A erupção eritematosa facial, com distribuição em asa de borboleta pelas proeminências nasais e malares, poupando as pregas nasolabiais, é a erupção cutânea clássica do LES (GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012)

Entre os primeiros sintomas relatados pelos pacientes com LES, as manifestações músculo-esqueléticas podem estar presentes em até 50% dos casos. Artralgias, artrites não erosivas (FIGURA 3), mialgia e miosite são características comuns no LES. A fibromialgia, caracterizada por pontos de gatilho dolorosos em locais característicos, é comumente identificada nos pacientes com LES e pode contribuir para achados de fadiga e depressão (ZOMA, 2004; MELO; DA-SILVA, 2012).

A deposição de imunocomplexos em diversos tecidos como rins, pele e cérebro, acompanhada de uma resposta inflamatória intensa pode resultar em danos teciduais irreversíveis. Alterações renais são frequentes no LES, sendo que 30 a 70% dos pacientes são acometidos em algum momento da evolução da doença, sendo um indicador de mau prognóstico (GOTTSCALK et al., 2015). Também tem sido observada doença coronariana e pericardite em pacientes com lúpus. A pericardite está associada à presença local de autoanticorpos e imunocomplexos e é a manifestação cardíaca mais comum (ROMAN et al., 2001)

Algumas alterações hematológicas são muito frequentes no LES, no entanto, é importante distinguir se as mesmas são decorrentes do LES, do tratamento ou ainda decorrentes de outras discrasias hematológicas. A leucopenia ocorre em cerca de 50-60% dos pacientes, sendo que a linfocitopenia é observada principalmente quando a doença está ativa. A trombocitopenia é caracterizada quando o número de plaquetas é inferior a $100.000/\text{mm}^3$, sem outra causa aparente. A maioria dos pacientes com LES e trombocitopenia tem aumento da destruição periférica de

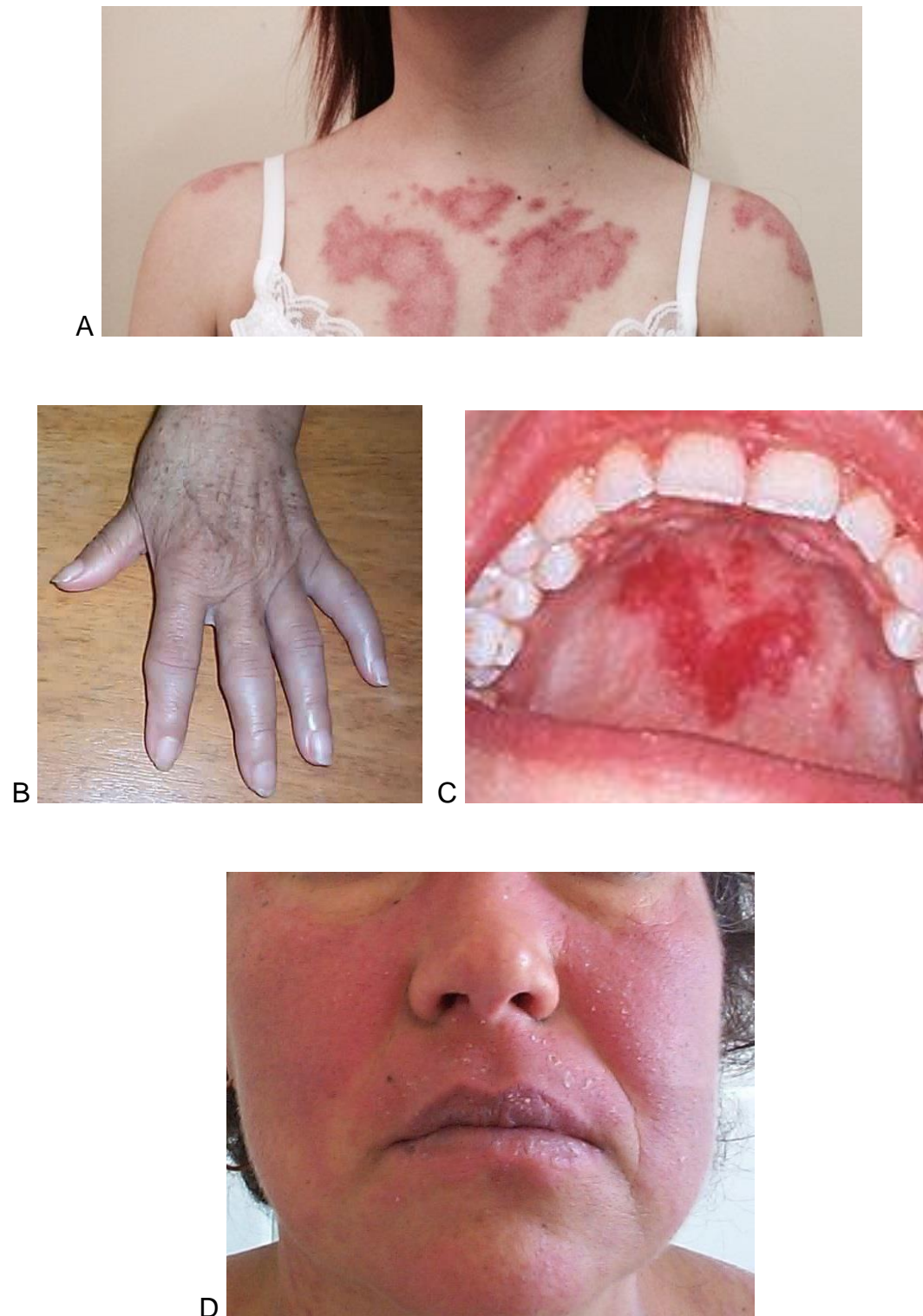


FIGURA 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DO LES.

FONTE: Imagens cedida pela Dra. Thelma L. Skare - Ambulatório de Reumatologia do Hospital Evangélico, Curitiba, Pr.

Nota: A: Lesão discoide. B: Artrite C: Úlcera oral. D: Fotossensibilidade.

plaquetas mediada por anticorpos antiplaquetas, mas outros mecanismos também podem estar ocorrendo (FAYYAZ et al., 2015).

Borchers *et al* (2010) consideram as manifestações neurológicas, tanto a nível central como periférico, importantes colaboradoras para a morbidade e mortalidade dos pacientes com LES, mas as infecções permanecem como as principais causas de morte por todo o curso da doença. Outros estudos também têm mostrado que as infecções oportunistas são a maior causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com LES, e normalmente requerem hospitalização (SCIASCIA et al., 2013).

Os patógenos causadores das infecções oportunistas são os mesmos que acometem a população em geral e causam pneumonia, tuberculose e infecções urinárias, no entanto, a infecção nesses pacientes pode ter características atípicas devido à resposta anormal do sistema imune ou ao tratamento a que estão submetidos. É importante ressaltar que em pacientes ambulatoriais normalmente infecções adquiridas não oferecem risco à vida, e em geral influenciam apenas na atividade da doença, mas por se tratar de pacientes com LES, sempre há a possibilidade de hospitalização, principalmente se o tratamento envolver esteroides e ciclofosfamida (SCIASCIA et al., 2013). A prednisona já foi descrita como sendo capaz de aumentar o risco à infecção, mesmo em doses moderadas (RUIZ-IRASTORZA et al., 2009).

Além das infecções, a atividade da doença e complicações cardiovasculares e trombozes são as principais causas de morte de pacientes com LES. Um grupo de 1000 pacientes acompanhado por longo período permitiu constatar que entre os pacientes que evoluíram para óbito 26.5% foi devido à atividade da doença, 26.5% à trombose e 25% às infecções (SCIASCIA et al., 2013).

A variação das manifestações clínicas entre os pacientes também depende de características étnicas e geográficas. As manifestações mucocutâneas e a fotossensibilidade, por exemplo, são mais frequentes em pacientes europeus ou seus descendentes do que em outras populações étnicas, enquanto em pacientes descendentes de africanos há predomínio de lesão discóide, porém com baixa frequência de *rash* malar e fotossensibilidade. Ainda em pacientes descendentes de europeus foi encontrada prevalência significativamente baixa de nefrite lúpica comparada às de outros grupos étnicos analisados (BORCHERS et al., 2010).

Estudos geoepidemiológicos de LES sugerem que a etnicidade tem maior influência na ocorrência de comprometimento renal e neuropsiquiátrico nos pacientes do que os fatores socioeconômicos, entretanto, o maior fator de risco para a mortalidade é a pobreza ou o baixo status socioeconômico (BORCHERS et al., 2010).

Deficiências de componentes iniciais do complemento têm sido observadas no “Lúpus Eritematoso Cutâneo Atípico”. Este difere da forma clássica em 4 aspectos: incidência aumentada de lesões discoides na pele, ausência de doença renal, títulos baixos ou ausentes de anticorpos anti-nucleares (ANA) e anticorpos anti-DNA, e o encontro de imunoglobulinas e componentes do complemento em lesões de pele são pouco frequentes (ÁBEL; AGNELLO, 2004).

2.1.6 Diagnóstico do LES e anticorpos anti-nucleares

O LES é caracterizado pela presença de linfócitos B e T autoreativos responsáveis pela ampla produção de autoanticorpos heterogêneos. Não há um teste considerado padrão-ouro para o diagnóstico da doença, e portanto, este tem sido realizado a partir de exames laboratoriais em conjunto com a avaliação do clínico (FAYYAZ et al., 2015). A pesquisa do fator anti-nuclear (FAN) é considerada padrão para triagem dos autoanticorpos anti-nucleares por ser positivo em praticamente todos os pacientes com lúpus. Além de autoanticorpos direcionados ao núcleo (ANAs), aqueles direcionados ao citoplasma e aos antígenos de membrana celular também têm grande importância sorológica para a doença (SKARE, 2007; COZZANI et al., 2014).

Os critérios de classificação para o diagnóstico do LES foram desenvolvidos em 1971, publicados em 1982 e revisados em 1997 (HOCHBERG, 1997) ANEXO 1 . Na revisão, o item de preparações LE positiva foi excluído e houve a inclusão de anticorpos antifosfolípides (anticardiolipina). Conforme a regra para a classificação do LES o paciente deve satisfazer no mínimo 4 dos 11 critérios descritos (PETRI et al., 2012).

Muitos autores têm questionado a validade dos critérios. Bizzaro et al. destacam a importância dos anticorpos anti-nucleossomos e os considera superiores aos anticorpos anti-dsDNA no diagnóstico do LES. Dória *et al.* sugerem que os

testes para anticorpos anti-Sm sejam substituídos por anticorpos anti-proteína P ribossomal, pois apresentam mesma especificidade e sensibilidade, no entanto, anticorpos anti-proteínas P ribossomal estão correlacionados com a atividade da doença e associados as manifestações neuropsiquiátricas do LES, enquanto os anticorpos anti-Sm em geral tem pouca variação no decorrer da doença (COZZANI et al., 2014).

Em 2012 um grupo da SLICC (*Systemic Lupus Internacional Collaborating Clinics*) revisou e validou os critérios do ACR a fim de incorporar novos conhecimentos sobre a imunologia do LES e aumentar a relevância clínica desses critérios. Entre as deficiências dos critérios da ACR foram citados a ausência de algumas manifestações cutâneas do lúpus, a omissão de muitas manifestações neurológicas e de baixos níveis de componentes do complemento (C3, C4 e CH50). Os critérios do SLICC compreendem 11 critérios clínicos e seis imunológicos, e ao contrário dos critérios ACR, requerem pelo menos um critério clínico e um imunológico para a classificação do LES (PETRI et al., 2012).

Os FANs (fatores anti-nucleares) são um grupo de autoanticorpos com diferentes especificidades antigênicas, sendo que os antígenos podem ser fita simples (ss-DNA) e dupla de DNA (ds-DNA), histonas, nucleossomos (complexo histona-DNA), proteínas do centrômero e antígenos nucleares extraíveis [ENA: antígeno Smith (Sm), Ro, La e ribonucleoproteína (RNP)]. Os FANs apresentam alta sensibilidade e baixa especificidade, estão presentes em 95% dos pacientes com doença ativa, 75% dos pacientes com prevalência de lesões cutâneas, e 100% em lúpus neonatal (LN). Autoanticorpos anti-DNA de dupla fita têm sido associados à patogênese do lúpus, inclusive com alta especificidade, pois estão presentes em 70% a 98% dos pacientes com LES e em menos de 0,5% dos indivíduos saudáveis ou com outra doença autoimune, além de estarem associados com o envolvimento renal (RAHMAN; ISENBERG, 2008; COZZANI et al., 2014).

Os anticorpos anti-fosfolípidos pesquisados na rotina são o anti-cardiolipina IgG e IgM, anticoagulante lúpico e com menor frequência o anti- β_2 glicoproteína I (anti- β_2 GPI). Estes estão associados à síndrome do anticorpo anti-fosfolípide (SAF), que causa fenômenos trombóticos de repetição e piora o prognóstico do paciente (SKARE, 2007).

Anticorpos específicos contra proteínas que se associam a ácidos nucléicos intracelulares podem estar presentes em muitos pacientes e reforçam a

possibilidade de diagnóstico. Os anticorpos anti-Sm (Smith), embora apresentem baixa sensibilidade, têm alta especificidade para o LES e, juntamente com os anticorpos anti-RNP, reagem com o spliceossoma. Os anticorpos anti-RNP estão relacionados com artrites, fenômeno de Raynaud e edema nas mãos e os anti-proteína P ribossomal com desordens neuropsiquiátricas. Os anticorpos anti-La (SSB) e anti-Ro (SSA) são específicos de partículas que possuem RNA, sendo este último comum em pacientes com síndrome de Sjögren, pacientes com *rash* por fotossensibilidade, especialmente aqueles com lúpus eritematoso subagudo (SCLE), assim como com serosite e manifestações hematológicas (SHERER et al., 2004; COZZANI et al., 2014).

2.1.7 Ferramentas para monitoramento da doença

A mortalidade dos pacientes com LES vem diminuindo e estima-se um nível de sobrevivência de 97% a 80% em cinco anos. No entanto, deve-se considerar a possibilidade desses pacientes apresentarem sequelas ou incapacidade decorrentes da própria doença ou do tratamento, uma vez que o mesmo é bastante agressivo por incluir doses elevadas de corticosteroides e imunossupressores. O tratamento objetiva a supressão da atividade da doença, a prevenção contra o surgimento de danos irreversíveis, a minimização de efeitos colaterais secundários aos fármacos, e o controle das comorbidades associadas. A fim de planejar e avaliar qual a melhor conduta terapêutica, faz-se necessário predizer ou mesmo identificar corretamente a atividade da doença (CICONELLI, 2011).

Alguns instrumentos têm sido desenvolvidos e validados para auxiliar os clínicos na avaliação da atividade da doença durante o atendimento médico, tais como: *SLE Disease Activity Index* (SLEDAI), *European Consensus Lupus Activity Measure* (ECLAM), *Systemic Lupus Activity Measure* (SLAM) e o *British Isles Lupus Assessment Group* (BILAG) (CASTREJÓN, 2014).

O SLEDAI (*Disease Activity Index*) consiste em um índice quantitativo de fácil aplicação, cuja pontuação pode variar desde zero até 105 (ANEXO 2). Este avalia a presença de manifestações clínicas e laboratoriais de atividade lúpica, presentes na data da avaliação ou nos 10 dias precedentes. Um escore inferior a oito indica doença com leve atividade, acima de oito caracteriza uma atividade moderada, e

acima de 12 a atividade da doença é considerada grave. O SLEDAI foi desenvolvido em 1985 e tem sido bastante utilizado no Brasil, com bons resultados quanto à validade e reprodutibilidade. No ano 2000 o SLEDAI foi revisado, dando origem ao SLEDAI 2K. Este por sua vez, apresentou melhor validade discriminativa (capacidade de distinguir pacientes claramente ativos daqueles inativos ou com atividade mínima). (SLEDAI 2K) (GLADMAN, D. et al., 1997; SILVA et al., 2008).

O BILAG foi revisado em 2004 e também utiliza uma avaliação quantitativa de oito sistemas orgânicos incluindo: sintomas gerais, muco-cutâneo, respiratório, cardiovascular, neurológico, musculoesquelético, renal e hematológico. A pontuação é feita com base na gravidade dos sintomas nas quatro semanas precedentes e na variação em relação à avaliação anterior (manifestação surgida de novo, melhor, estável ou pior). Não há um escore total, e sim dos sistemas separadamente, e o resultado é representado por letras do alfabeto (de A a E) (SILVA et al., 2008; CICONELLI, 2011).

Para avaliar o dano tecidual irreversível em pacientes com LES uma única ferramenta foi validada, o SLICC/ACR DI (*SLICC/ACR Damage Index*). Esta ferramenta contempla danos permanentes e irreversíveis detectados após o diagnóstico do LES, porém estes danos não precisam necessariamente ser decorrentes da doença. Os danos devem ainda estar presentes no mínimo há seis meses, com exceção de infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular cerebral (AVC), pois estes são considerados a partir da primeira ocorrência (SUTTON et al., 2013). Os critérios avaliados no SLICC/ACR DI envolvem 12 diferentes órgãos e sistemas e a pontuação total dos pacientes pode variar entre 0 e 49. A variação dos pontos de cada item varia entre um e três dependendo da gravidade, quantidade de eventos ou de locais afetados (ANEXO 3). Ao longo do tempo o escore SLICC/ACR DI pode aumentar, mas nunca diminuir, pois mesmo que haja uma correção da situação inicial, o dano continua a ser contabilizado (SILVA et al., 2008)

O escore SLICC/ACR DI tem sido descrito como importante preditor de mortalidade, sendo que alguns autores atribuíram esse fato a uma maior incidência de eventos pulmonares, como hipertensão e fibrose, além de doença renal (STOLL et al., 1996; CARDOSO et al., 2008). Outros estudos demonstraram ainda a importante participação de doenças cardiovasculares e neuropsiquiátricas (GUARIZE et al., 2004; MARCELINA et al., 2004). Além do tempo de duração da

doença, a etnia dos pacientes e os fatores socioeconômicos influenciam na taxa de mortalidade e nos danos irreversíveis mais frequentes nas diferentes populações (BRUCE et al., 2014). Também já foi relatado que o número de *flares* apresentados pelo paciente aumenta o risco de o mesmo apresentar dano acumulado (UGARTE-GIL et al., 2014).

2.2 SISTEMA COMPLEMENTO

2.2.1 Aspectos Gerais

Há mais de 100 anos atrás o sistema complemento (SC) foi identificado como um conjunto de componentes do plasma sensíveis ao calor, cuja função era auxiliar na opsonização e fagocitose de bactérias, ou seja, complementar a resposta humoral (¹BORDET; GENGOU¹, 1901, *apud* CERIBELLI et al., 2009). Atualmente, sabe-se que a função do complemento é muito mais ampla, central e essencial na resposta imune do hospedeiro e nos diferentes processos inflamatórios (CERIBELLI et al., 2009).

O SC representa um importante mecanismo efetor da resposta inata do indivíduo, onde atua em conjunto com barreiras epiteliais, fagócitos, células *natural killer* (NK) e citocinas. Este compreende um conjunto de aproximadamente 40 proteínas plasmáticas, incluindo proteínas regulatórias e de superfície celular, como os receptores do complemento, que interagem com outros componentes da resposta imune a fim de eliminar microrganismos, imunocomplexos, células apoptóticas e necróticas. O SC ainda participa de outras funções fisiológicas como a maturação sináptica neurológica, mobilização de células tronco hematopoiéticas, angiogênese, regeneração tecidual e metabolismo lipídico (RICKLIN et al., 2010; DEGN; THIEL, 2013; MERLE et al., 2015)

As proteínas do complemento são ativadas somente quando a proteólise sequencial de outras proteínas gera complexos enzimáticos capazes de hidrolisá-

¹BORDET, J. ; GENGOU, O. Surl'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérum antimicrobiens. *French Ann. Inst. Pasteur*, v. 15, p. 289–302, 1901.

las. A cascata proteolítica permite uma grande amplificação da ativação do complemento e os produtos dessa ativação poderão se ligar covalentemente às superfícies de células microbianas ou a anticorpos ligados a antígenos. O complemento ativado não causa danos às células do hospedeiro porque sua ativação é regulada por proteínas específicas, normalmente presentes nas células do hospedeiro e ausentes em microrganismos (ABBAS, 2011).

Diversos componentes do SC possuem função regulatória e de reconhecimento de antígenos. Tais proteínas se encontram em delicada homeostasia que, quando comprometida, provoca reações inadequadas, culminando muitas vezes com o reconhecimento e ataque de estruturas próprias e desenvolvimento de processos patológicos (CHEN et al., 2010).

2.2.2 Vias de ativação do complemento

A ativação do complemento ocorre de forma sequencial e basicamente em quatro etapas: Iniciação, ativação da convertase C3 e amplificação, ativação da convertase C5 e ativação e montagem do complexo de ataque à membrana (MAC). A progressão da cascata é rigidamente controlada por várias proteínas reguladoras e inibidoras presentes nos tecidos do indivíduo. Três diferentes vias estão envolvidas nessas etapas e são capazes de iniciar a cascata do complemento: clássica, alternativa e via das lectinas (VL) (FIGURA 4). A ativação através da via clássica requer a ligação do componente C1q a imunocomplexos, a via alternativa é ativada pela hidrólise espontânea e contínua do componente C3, o que mantém o SC sempre alerta, enquanto a ativação da VL se dá pela ligação de ficolinas, lectina ligante de manose (MBL) ou outras colectinas, associada à serinas proteases (MASP), a padrões de carboidratos presentes na superfície de microrganismos ou estruturas próprias modificadas. Todas as vias resultam na formação da enzima C3 convertase, ponto central da cascata proteolítica do complemento (ABBAS, 2011. SARMA; WARD, 2011).

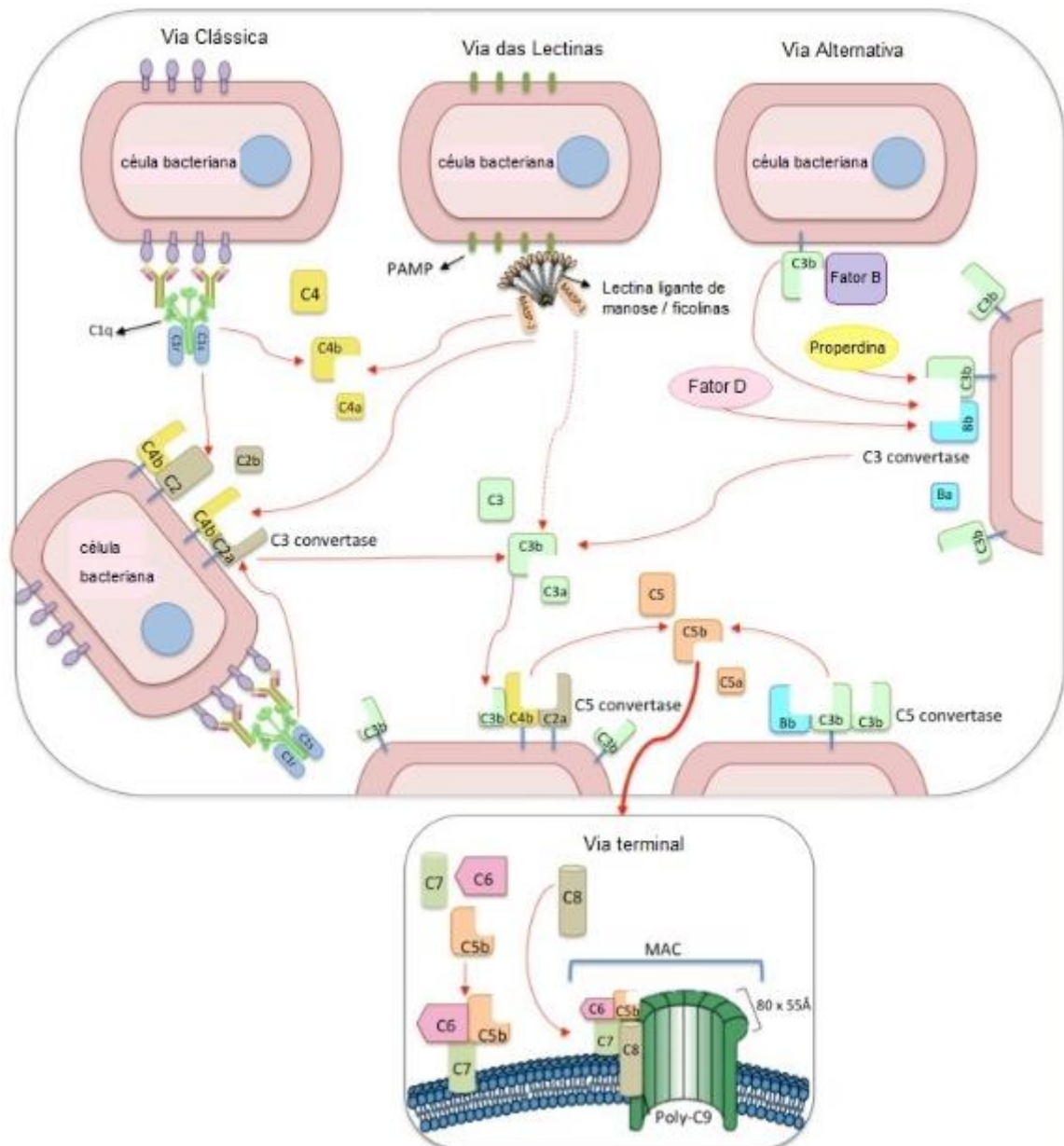


FIGURA 4 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO COMPLEMENTO.

FONTE: adaptado de BELTRAME ET AL., 2015

O componente C1 do complemento pode ligar-se a anticorpos IgM e IgG ligados ao antígeno e, desta forma, iniciar a ativação do SC pela via clássica. Os antígenos aos quais os anticorpos se ligam podem ser patógenos, proteína C reativa, DNA, RNA ou corpos apoptóticos. A proteína C1 é um complexo proteico grande composto de subunidades C1q, C1r e C1s. C1q se liga ao anticorpo e C1r e C1s são proteases. A subunidade C1q é um hexâmetro semelhante a um guarda-chuva, pois possui um braço central, semelhante ao colágeno, sustentando 6 cadeias com extremidades globulares. A ligação de duas ou mais dessas

extremidades globulares às regiões Fc de IgG ou IgM ativa C1r associada, a qual cliva e ativa C1s. Esta, uma vez ativada, cliva a próxima proteína do complemento, C4, gerando C4b e C4a. O C4b ligado à superfície celular se complexa com outra proteína do complemento, C2, que é então clivada por uma molécula C1s vizinha para gerar o fragmento C2b. Forma-se então o complexo C4b2a, que é a C3 convertase da via clássica, com capacidade para clivar o componente C3 do complemento em mais dois fragmentos, sendo que o C3b pode se ligar covalentemente à superfície celular ou à imunocomplexos. (RICKLIN et al., 2010; SARMA; WARD, 2011)

A via alternativa tem componentes homólogos a alguns componentes da via clássica. C4 da via clássica é homólogo ao C3 da via alternativa, e o fator B desta mesma via é homólogo ao componente C2 da via clássica. A via alternativa resulta na clivagem de C3 em C3a e C3b, C3b sofre uma alteração conformacional e expõe um domínio tio-éster capaz de se ligar à superfície celular, inclusive de microrganismos. Caso a mudança conformacional de C3b seja brusca, ele pode perder seu domínio tio-éster e expor um local de ligação para o fator B, que pode ser então clivado pela ação de outra protease (fator D) e gerar os fragmentos Ba e Bb. O Bb permanece ligado ao C3b para formar o complexo C3bBb, conhecido como C3 convertase da via alternativa, cuja função também é formar mais moléculas C3. Desta forma, a via alternativa atua como amplificadora da ativação do complemento. O complexo C3bBb em geral é rapidamente degradado em células de mamíferos devido à presença de proteínas reguladoras. Essas proteínas estão ausentes em microrganismos, por isso o complexo C3bBb pode funcionar e ativar a cascata do complemento em resposta aos mesmos. Além disso, a única proteína capaz de regular positivamente o complemento, a properdina, é favorecida nas células microbianas (FIGURA 4). Quando duas moléculas de C3b se ligam a uma molécula de Bb é gerado o complexo C5 convertase da via alternativa, para clivar o componente C5 e iniciar as etapas tardias da ativação do complemento. A C5 convertase também pode ser gerada quando um fragmento C3b oriundo da via clássica liga-se ao complexo C4b2b dessa via (ABBAS, 2011. RICKLIN et al., 2010).

Na ausência de anticorpo tanto a via alternativa como a via das lectinas pode ser ativada. A via das lectinas é ativada quando moléculas de reconhecimento se ligam a polissacarídeos ou resíduos acetilados presentes em patógenos ou em células apoptóticas, necróticas ou com características de malignidade. As moléculas

de reconhecimento podem ser colectinas (MBL e CL-K1) e ficolinas (ficolina-1, ficolina-2 e ficolina-3). Estas, quando estão circulantes, associam-se às proteases MASP-1, MASP-2, MASP-3, MAp19 e MAp44 formando complexos (KJAER et al., 2013; BELTRAME et al., 2015).

As etapas da via das lectinas são semelhantes àquelas da via clássica, com duas diferenças: a primeira é que a MBL ligada ao resíduo de manose de um polissacarídeo liga-se a outras duas proteínas, MASP-2 e MASP-1, formando assim um complexo similar àquele formado por C1r e C1s. A segunda diferença é a clivagem de C4 e C2 realizada pela ação da MASP-2. A MASP-1 ativa a MASP-2 e ainda é capaz de ativar o Fator D que atua na via alternativa. A MASP-3, juntamente com outras serina proteases pequenas (MAp19 e MAp44) parecem regular esta via, competindo com os mesmos sítios de ligação para MASP-1 e MASP-2. Enquanto a via clássica reconhece complexos antígeno-anticorpo, a via das lectinas reconhece em microrganismos estruturas altamente conservadas conhecidas como *padrões moleculares associados a patógenos* (PAMPs), e em células apoptóticas e/ou tumorais reconhece *padrões moleculares associados ao dano* (DAMPs) (ENDO et al., 2011; BOLDT et al., 2012)

As três vias descritas geram complexos C5 convertase e iniciam a ativação dos últimos componentes do complemento (C5, C6, C7, C8 e C9), resultando na formação do complexo de ataque à membrana (MAC). Quando várias moléculas de C9 se ligam ao complexo já formado pelos outros componentes, ocorre polimerização destas e formação de poros nas membranas plasmáticas, através dos quais passam livremente água e íons, resultando em edema osmótico e ruptura da célula na qual o MAC foi depositado (ABBAS, 2011. RICKLIN et al., 2010).

2.2.3 Lectina Ligante de Manose (MBL)

A MBL é um dos componentes centrais da via das lectinas. É uma proteína sintetizada no fígado e pertence à família das colectinas, proteínas cujos domínios lectina estão associados a estruturas de colágeno. A MBL pode ativar o SC e interagir diretamente com receptores de colectinas nas células fagocíticas, promovendo a opsonização e fagocitose em processos imunes (CARVALHO et al.,

2007). Na corrente sanguínea a MBL forma complexos com serina proteases (MASP-1, MASP-2, MASP-3 e MASP-19 (sMASP)) a fim de facilitar a ligação cálcio dependente da MBL em domínios de reconhecimento de carboidratos (CRD) nas células microbianas, e assim mediar a ativação do SC por meio da via das lectinas. Apesar do nome, a MBL não se liga apenas em manose e seus multímeros, ela também reconhece glicose, L-fucose e N-acetilglicosaminas, exceto galactose. A MBL pode se ligar à bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, vírus e protozoários, mas também pode se ligar a fosfolípidos e ácidos nucleicos. (HEITZENEDER et al., 2012; BELTRAME et al., 2015).

A sequência proteica e o gene estrutural da MBL foi determinado em 1989 por Taylor *et al.* e Sastry *et al.* Os genes das colectinas humanas estão todos situados no cromossomo 10 (q21-24). O gene da MBL humana (*MBL2*), compreende 4 exons e 3 íntrons, e está localizado mais especificamente na posição 10q11.2-q21 (FIGURA 5) (HEITZENEDER et al., 2012).

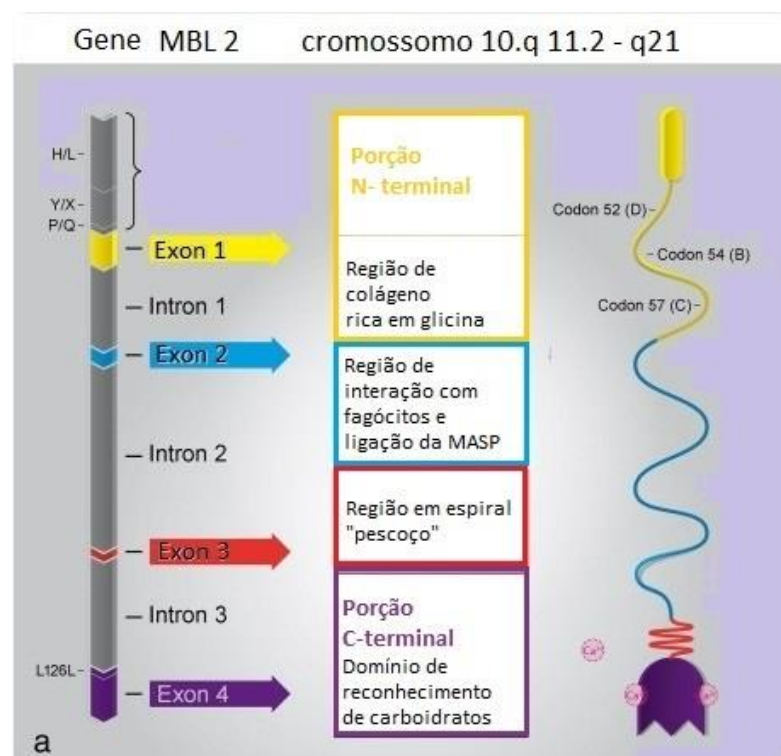


FIGURA 5 - GENE *MBL2*

FONTE: Adaptado de HEITZENEDER et al., 2012

A concentração sérica da MBL varia significativamente, podendo ocorrer de 0 a 5000 ng/ml em indivíduos saudáveis, com aumento de duas a três vezes durante a

resposta de fase aguda. A variação na concentração é atribuída a mutações no exon 1 do gene *MBL2* associadas a vários sítios polimórficos da região promotora do gene. Este fato resulta em defeitos na polimerização da molécula levando à deficiência funcional e de expressão da proteína (PRESANIS et al., 2003; CARVALHO, 2006). Polimorfismos nos códons 52, 54 e 57, todos do exon 1, resultam em uma redução significativa das concentrações séricas de MBL, devido a uma maior eliminação das proteínas não funcionais que foram sintetizadas (TAKAHASHI et al., 2004).

Em algumas condições, altas concentrações séricas de MBL são prejudiciais ao hospedeiro. Por outro lado, deficiências da proteína, determinadas por alguns genótipos, tanto podem contribuir para maior suscetibilidade e pior progressão de infecções por vírus e bactérias, como podem, ao comprometer a opsonização por C3b, proteger o organismo contra infecções por microrganismos intracelulares (VALDIMARSSON, 2003; CARVALHO et al., 2007).

Alguns estudos têm relacionado valores baixos de MBL ou frequência aumentada dos alelos mutantes em pacientes com doenças autoimunes (POTLUKOVA et al., 2013). Concentrações séricas baixas de MBL e MASP-2, assim como variantes relacionadas à baixa produção de MBL já foram associadas ao risco elevado para o desenvolvimento da artrite reumatoide (GOELDNER et al., 2014). Diversos estudos descrevem a relação entre polimorfismos no gene que codifica a MBL e as concentrações séricas da mesma em pacientes com LES (TAKAHASHI et al., 2005; SANDRIN-GARCIA et al., 2011; PANDA et al., 2013; TANHA et al., 2014).

2.2.4 O Sistema Complemento e o LES

A participação do SC no desenvolvimento do LES é paradoxal, uma vez que sua ativação excessiva pode causar acúmulo de fragmentos do complemento em tecidos e gerar um intenso processo inflamatório. Por outro lado, a deficiência genética de seus componentes, principalmente aqueles da via clássica, também provoca uma das características do LES que é a remoção ineficaz de corpos apoptóticos e complexos imunes, somado ao distúrbio de tolerância das células B e T aos antígenos próprios do indivíduo, uma vez que os componentes do

complemento parecem determinar o limiar de tolerância dessas células (CARROLL²², 1998 *apud* BARILLA-LABARCA et al., 2013).

A deficiência de C1q, C2 e C4 é a explicação mais consistente para o envolvimento do SC com doenças reumáticas autoimunes, o que permitiu considerar a importância do SC não apenas na resposta inata, mas também no sistema imune humoral e na auto reatividade de células B (BARILLA-LABARCA et al., 2013). A deficiência hereditária homozigótica de C2 foi a primeira deficiência relacionada ao LES e é a mais comumente observada, embora a associação entre a deficiência de C2 e C4 com o desenvolvimento do LES não seja tão forte como com a deficiência de C1q. Já a deficiência de C3 é muito rara em humanos, mas em pacientes com LES já foi observada deficiência adquirida dessa proteína, associada a concentrações normais de C2 e C4, sendo que grande parte destes pacientes desenvolveu problemas renais. A presença de uma proteína que cliva C3 no soro dos pacientes pode ser a razão da deficiência. Esta proteína tem sido descrita como um auto-anticorpo que estabiliza a enzima C3 convertase da via alternativa do complemento (ÁBEL; AGNELLO, 2004; SARMA; WARD, 2011).

A deficiência homozigótica completa do componente C1q é um forte fator de risco genético para o LES, e aproximadamente 90% dos indivíduos afetados desenvolvem lúpus ou doença muito semelhante. O componente C4 participa tanto da ativação da via clássica como da via das lectinas, e a sua deficiência completa ou homozigótica também é um forte fator de risco, porém é rara. A deficiência parcial desses componentes, isoladamente, não predispõe ao LES. As concentrações séricas de C1q e C4 são utilizadas para monitorar a evolução da doença nos pacientes com lúpus (TRUESSON et al., 2007; BOTEVA et al., 2012).

Poucos casos de LES estão associados às deficiências hereditárias de C3, C5, C6, C7 e C8. No entanto, deficiências de componentes tardios do complemento estão normalmente ligados à ocorrência de infecções e não à autoimunidade (ÁBEL; AGNELLO, 2004; CHEN et al., 2010). Chiu, et al. (1998), obtiveram correlação entre as concentrações séricas do complexo C5b-9 (produto final da ativação do complemento ou MAC) com a gravidade do LES em pacientes brasileiros, e apontou o mesmo como um marcador sensível de atividade da doença (CHIU et al., 1998).

Estudos têm evidenciado a importância da via das lectinas no desenvolvimento de doenças infecciosas, de injúria tecidual não infecciosa e

²²CARROLL M.C., The lupus paradox, **Nat. Genet**, v. 19, n.1, p.3-4, 1998.

doenças autoimunes como o LES (HEITZENEDER et al., 2012). A MBL é uma das proteínas fundamentais nessa via por ativar o SC e contribuir nos processos de opsonização e inflamação (HO et al., 2012). O envolvimento da MBL na fisiopatogenia do LES tem sido analisado sob vários aspectos, incluindo polimorfismos no gene estrutural da MBL e em seu promotor, variações nas concentrações séricas de MBL e sua relação com as manifestações clínicas do LES e a deposição deste componente do complemento em diferentes tecidos considerados alvo no lúpus (WALLIM et al., 2014).

A via alternativa é considerada mediador chave da inflamação e um forte mecanismo de patogenicidade no LES. Picceli *et al.* (2015) analisaram a variabilidade alotípica do fator B (BF) em pacientes com LES e mostraram uma associação entre o fenótipo BF SS07 e o alótipo BF*S07 com anticorpos anticardiolipina IgM. Pesquisadores acreditam que a regulação desta via de ativação do complemento pode retardar o aparecimento do LES, além de ser um potencial alvo terapêutico para a doença. Estudos sobre esta via de ativação do SC também têm demonstrado relação com outras doenças autoimunes que podem estar associadas ao LES (SEKINE et al., 2011; PICCELI, 2013; PICCELI et al., 2015).

Considerando ainda a ativação exacerbada do SC como uma das causas do LES, inibidores do complemento têm sido estudados em modelos animais, porém estudos em humanos são escassos. Embora os resultados sejam animadores quanto à diminuição da atividade da doença e danos teciduais, ressalta-se os possíveis efeitos indesejáveis como aumento da susceptibilidade a infecções e comprometimento da remoção de complexos imunes (BARILLA-LABARCA et al., 2013).

A deficiência de moléculas reguladoras como os inibidores do componente C1 do complemento, a deficiência de receptores CR1 em células brancas e vermelhas, a deficiência de Fator H e a deficiência de moléculas de CR3 funcionais, também têm sido relacionadas ao aparecimento do LES (ÁBEL; AGNELLO, 2004). Estudos de associação gênica têm revelado uma série de genes que codificam moléculas envolvidas na fisiopatogenia do LES, incluindo ITGAM, receptores Fc gama, componentes do complemento e Proteína C-reativa (PCR), sendo que a maioria destas atua como opsonina, destacando-se a importância das vias de opsonização para a compreensão do mecanismo da doença (KELLEY et al., 2010).

2.2.5 A Via das Lectinas e o LES

Mutações no gene que codifica a proteína MBL tem resultado em deficiência da mesma em pacientes com LES. Estudos têm avaliado os níveis séricos de MBL e sua relação com a presença de genes que sofreram alguma mutação, bem como com manifestações clínicas e infecções apresentadas pelos pacientes (SANDRIN-GARCIA et al., 2011). Monticelo *et al.* 2010 examinaram as associações potenciais de alelos do gene da MBL (G57E, G54D, IVSnt5, R52C e R52H) com a susceptibilidade ao LES e à expressão clínica da doença em pacientes do sul do Brasil. Os autores concluíram que pacientes descendentes de europeus, portadores do alelo R52C, têm risco aumentado para desenvolver o LES, porém não encontraram associação clínico-laboratorial com as variantes alélicas (MONTICIELO et al., 2010).

Dados obtidos em diferentes populações, incluindo caucasianos, chineses, indianos e japoneses, demonstraram aumento na frequência de mutações nos genes da MBL, com consequente presença de MBL não funcional em pacientes com LES (ÁBEL; AGNELLO, 2004). Ho, *et al.* (2012), realizaram um estudo de meta-análise com três diferentes grupos étnicos e confirmaram que o polimorfismo no códon 54 do gene *MBL2* tem associação com a susceptibilidade ao LES em europeus, africanos e asiáticos (HO et al., 2012). No entanto, outros estudos têm apresentado resultados contraditórios (BULTINK et al., 2006; TSAI et al., 2009) e/ou apontado outros fatores que também influenciam na atividade funcional da MBL, como polimorfismo na região promotora do gene, atividade das MASP's e fatores ambientais (MADSEN et al., 1995). A relação entre o polimorfismo do gene *MBL2* e a predisposição ao LES, ou ao desenvolvimento de manifestações clínicas relacionadas à doença, é apenas um dos aspectos abordados envolvendo a via das lectinas e o LES (WALLIM et al., 2014).

Aliado a esses aspectos, sabe-se que a deficiência de MBL, ao comprometer o mecanismo de opsonização, favorece a ocorrência de infecções, aumentando a chance de desencadeamento do LES, em indivíduos geneticamente susceptíveis (TAKAHASHI et al., 2004). Mok *et al.* (2007) concluíram que baixos níveis séricos de MBL predispõem pacientes chineses com LES a desenvolverem mais infecções bacterianas (MOK et al., 2007).

Algumas hipóteses já foram sugeridas para explicar a relação entre concentrações séricas de MBL e o LES, sendo que uma dupla função da lectina foi demonstrada. A MBL tem papel central na ativação do SC pela via das lectinas, assim como na eliminação de células apoptóticas. Em situações de baixas concentrações de MBL essa remoção fica prejudicada, resultando em maior exposição de auto-antígenos e consequente aumento da produção de autoanticorpos. Quando a MBL está presente em altas concentrações, pode-se acentuar a ativação do SC, ocasionando danos teciduais pelo efeito pró-inflamatório (PRADHAN et al., 2010).

Alguns estudos têm enfatizado a importância de biomarcadores para o LES, sendo a MBL uma das opções descritas. Biomarcador é um parâmetro biológico que pode ser mensurado e avaliado como um indicador de processos normais, patológicos, ou de resposta às intervenções terapêuticas. No LES, o biomarcador pode ter várias aplicações: prever as manifestações do LES e/ou o envolvimento de órgãos específicos; diagnóstico do LES, monitorar a atividade da doença; prever os períodos de exacerbação da doença (*flares*); prever e monitorar respostas à terapia; prever e descrever os danos irreversíveis (ILLEI et al., 2004).

A probabilidade de obtenção de um biomarcador pode ser classificada em promissora, possível ou improvável. Para ser considerado promissor um determinado parâmetro deve ter apresentado associação/correlação em no mínimo três estudos ou apresentar uma forte associação, se poucos estudos tiverem sido realizados. Quando os resultados são controversos ou apenas associações/correlações fracas ou moderadas são encontradas, deve-se classificar como um possível biomarcador. Primeiramente, o polimorfismo gênico da MBL foi classificado como promissor para a susceptibilidade ao LES (ILLEI et al., 2004; AHEARN et al., 2012). Recentemente, foi demonstrado o potencial da MBL também como um biomarcador da atividade da doença (PANDA et al., 2012).

Embora ainda não se conheça precisamente as consequências do excesso ou deficiência de MBL sérica no aparecimento e progressão do LES, estudos têm sugerido uma relação dessa proteína com as manifestações clínicas da doença. Panda et al, (2012) observaram que pacientes com manifestações músculo-esqueléticas e cutâneas apresentaram menor concentração de MBL ao compará-los com aqueles que apresentaram serosite, cardite, nefrite e manifestações neuropsiquiátricas (PANDA et al., 2012). Polimorfismos do gene *MBL2* também têm

sido relacionados às manifestações clínicas da doença, assim como sendo um fator de risco para o desenvolvimento do LES (SANDRIN-GARCIA et al., 2011). Jakab *et al.* (2007) associaram o genótipo XA/XA a um maior risco de desenvolvimento de manifestações cutâneas, pleurite e pericardite (JAKAB et al., 2007). Também já foi observada deposição de MBL em lesão cutânea e tecido renal em pacientes com LES, corroborando a participação da via das lectinas no processo fisiopatológico da doença (NISHIHARA et al., 2013; WALLIM et al., 2014).

A MBL também pode ser relevante no monitoramento dos pacientes com LES, pois observou-se correlação positiva entre o escore da atividade da doença (SLEDAI) e concentrações séricas elevadas de MBL (TAKAHASHI et al., 2005; PANDA et al., 2013). A atividade da doença, quando persistente, também apresentou associação com danos irreversíveis detectados após o diagnóstico do LES (SLICC/ACR DI). Tal índice também pode ser influenciado por outros fatores como idade de início da doença, presença de manifestações renais e neuropsiquiátricas, produção de citocinas e tratamento medicamentoso, no entanto, são escassos estudos buscando avaliar a influência da MBL no desenvolvimento dos danos acumulados (SUTTON et al., 2013).

Considerando a grande variedade étnica encontrada na região sul do Brasil, e a ausência de estudos que buscam entender a relação entre as concentrações de MBL e os diversos aspectos do LES, pesquisas nessa população poderão contribuir para um maior entendimento a respeito da participação da MBL no curso clínico da doença e no desenvolvimento de danos aos órgãos, além de reforçar o seu potencial como biomarcador para a atividade da doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo é resultado de uma parceria entre a Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba e o Laboratório de Imunopatologia Molecular do Hospital de Clínicas (HC) da UFPR. O projeto de pesquisa protocolado sob o número 051853/2014 foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba (ANEXO 4).

O projeto está inserido em uma linha de pesquisa em LES, desenvolvida no Laboratório de Imunopatologia Molecular (PICCELI, 2013; PICCELI et al., 2013, 2015)

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo analítico transversal com observação do histórico clínico dos pacientes.

3.2 CASUÍSTICA

Foram analisadas amostras de sangue de 195 pacientes portadores de LES, coletadas entre setembro de 2011 e março de 2012 no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Evangélico de Curitiba, Paraná. As referidas amostras foram coletadas para o projeto de pesquisa protocolado sob o número 5831/11 e aprovado pelo comitê de ética acima citado.

Na época, o referido ambulatório possuía aproximadamente 400 pacientes registrados com LES e destes, 300 eram ativos. Em média 30 pessoas eram atendidas semanalmente, sempre às terças feiras no período da manhã. Os pacientes receberam informações a respeito do projeto, sendo que aqueles que concordaram em participar do mesmo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e tiveram sua amostra de sangue coletada.

Para a seleção dos pacientes foram considerados os seguintes critérios de inclusão: o paciente deveria atender ao menos 4 critérios diagnósticos estabelecidos pelo *American College of Rheumatology* (ARNETT et al., 1988; HOCHBERG, 1997)

e deveria ser maior de 16 anos. Aqueles menores de 18 anos tiveram o termo de consentimento assinado pelo responsável.

No grupo controle foram estudados 145 indivíduos voluntários e sadios da mesma área geográfica dos pacientes, que declararam não ter familiares com LES. Estes apresentaram a maior proximidade possível em relação ao gênero, idade e origem étnica dos pacientes. As amostras de sangue desses indivíduos fazem parte da soroteca do Laboratório de Imunopatologia Molecular do HC-UFPR. Essas foram obtidas de profissionais e estudantes da área da saúde, os quais tiveram seu sangue coletado após esclarecimento e consentimento formal prévio.

3.3 METODOLOGIA

3.3.1 Obtenção, processamento e caracterização das amostras

A coleta de sangue foi realizada no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Evangélico de Curitiba e as determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia Molecular do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Aproximadamente 10 ml de seu sangue venoso foi obtido dos indivíduos participantes do estudo e dividido em dois tubos - sem anticoagulante e com EDTA. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 3.500 rpm (Centrífuga Eppendorf 5416, Hamburg, Alemanha). Em seguida, as amostras sem anticoagulante foram subdivididas em 3 alíquotas de soro, as quais foram armazenadas à temperatura de -80°C, até serem utilizadas nas determinações laboratoriais. As amostras com EDTA foram subdivididas em plasma e *buffy coat* (camada de leucócitos), os quais foram armazenados à temperatura de - 80°C.

A caracterização das amostras dos pacientes foi determinada com base na análise de seu histórico clínico, o qual foi levantado através de consulta ao questionário epidemiológico utilizado pelo ambulatório, e através dos prontuários médicos dos pacientes. A determinação da origem étnica dos indivíduos foi feita através do questionamento aberto em relação a sua ascendência e também através dos aspectos físicos observados pelo pesquisador em cada indivíduo.

Com o objetivo de estabelecer associações clínicas, foram analisados dados referentes à epidemiologia, idade de início da doença, duração da doença, perfil clínico determinado pelos critérios classificatórios para diagnóstico de LES e obtidos de maneira cumulativa, anexo 1 (HOCHBERG, 1997), características clínicas presentes no momento da consulta, de acordo com questionário SLEDAI, anexo 2 (GLADMAN, D. et al., 1997) e danos teciduais irreversíveis posteriores ao diagnóstico do LES, registrados nos prontuários, conforme roteiro para mensuração do SLICC/ACR DI, anexo 3 (SILVA et al., 2008). Os dados laboratoriais referentes a marcadores inflamatórios incluindo proteína C reativa (PCR), pentraxina 3, C3, C4, velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteinúria também foram obtidos nos prontuários dos pacientes na data da determinação do escore SLEDAI.

3.3.2 Determinação das concentrações séricas de MBL

Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Imunopatologia Molecular do Hospital de Clínicas da UFPR.

As concentrações de MBL circulantes foram determinadas por meio de imunoensaio enzimático (ELISA) *in house* (PETERSEN et al., 2001). O ensaio de ELISA foi realizado manualmente e desenvolvido nas etapas descritas a seguir.

A adsorção prévia da placa Nunc (Maxisorp) foi realizada com 100µl de uma solução de manana (Sigma) diluída à 1:3000 em tampão de ligação (bicarbonato de sódio 0,1 M, pH 9,6) à 4°C por 18 horas. Na etapa seguinte, foram adicionados à reação 100µl de albumina humana a 1mg/ml em tampão de diluição (tris/base 20 mM; NaCl 1M; 0,05% de triton X; CaCl₂ 10mM; 1 mg/ml de albumina humana, pH 7,4) e, em seguida, incubado por 1 hora à 25°C. A adição de albumina é importante para evitar que ocorram reações inespecíficas nas etapas seguintes, pois ela se liga aos sítios que não adsorverem a manana.

A seguir, através de 4 lavagens com tampão específico (tris/base 10mM; NaCl 0,14M; 0,05% tween 20; CaCl₂ 5 mM; 0,1% NaN₃ 0,015M, pH 7,4), foi removido da placa todo o material em excesso, e na sequência foram adicionados às escavações 100µl dos padrões com diferentes concentrações de MBL (*Statens Serum Institut*, Copenhagen, Dinamarca) e 100µl das amostras de soro dos pacientes e controles,

previamente diluídas a 1/100 com tampão de diluição. A placa foi novamente incubada em geladeira à 4°C por 18 horas. Nesta etapa, a MBL presente nas amostras se liga especificamente à manana adsorvida.

A placa foi lavada novamente por 4 vezes, com tampão específico para lavagem, para retirada do material que não reagiu. O anticorpo monoclonal de camundongo anti-MBL humana (HYB131-10 *Antibody Shop*, Copenhagen, Dinamarca), diluído a 1/1000 em tampão de diluição, foi adicionado à reação. Nova incubação ocorreu durante 1 hora e 30 minutos à 25°C, sob leve agitação. Após 4 lavagens da placa com o tampão específico para a remoção dos anticorpos não ligados a MBL, foi adicionado à reação 100µl do anticorpo secundário de coelho anti-camundongo, conjugado com fosfatase alcalina (Sigma, EUA), diluído à 1/1300 com tampão de diluição. Nesta etapa, o anticorpo secundário se liga ao anticorpo primário ligado a MBL, formando um complexo. A reação ocorreu em 1 hora à 25°C. O anticorpo conjugado que não se ligou ao primário foi removido por 4 lavagens com tampão específico.

Na sequência, foi acrescentado o cromógeno (solução de p-nitrofenolfosfato PNPP em tampão TRIS) que atua como substrato da fosfatase alcalina. Após incubação de 18 horas à 25°C, a reação enzimática produziu um produto colorido cuja intensidade de cor foi aferida em um leitor de ELISA a 450nm (ELX 800 Bio-tek instruments) (FIGURA 6). A absorbância obtida das leituras dos padrões de concentrações conhecidas é proporcional à concentração de formas oligoméricas de MBL presentes nas amostras.

Com base em estudos anteriores e nas concentrações séricas de MBL observadas nos pacientes e controles deste estudo, definiu-se três faixas de concentração (PANDA et al., 2012): Indivíduos com concentrações de MBL sérica variando de 0 a 100 ng/mL foram considerados baixos produtores, entre 100 e 2000 ng/ml foram considerados com concentrações intermediárias e acima de 2000 ng/ml com concentrações elevadas.

A presente reação foi integralmente padronizada no Laboratório de Imunopatologia Molecular do Hospital de Clínicas da UFPR e foi retestada previamente ao início dos ensaios.

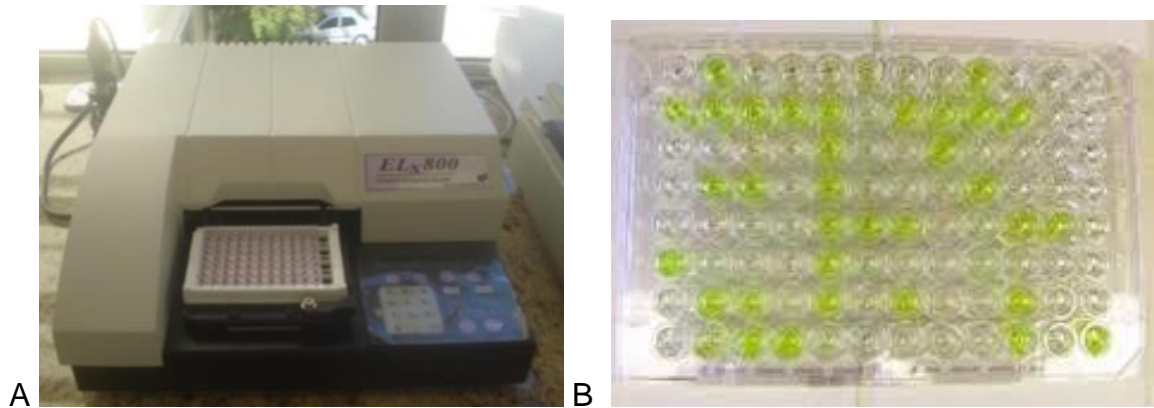


FIGURA 6 - DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL

A. Leitor de Elisa. B. Placa ao final do processo com produto colorido resultante da reação enzimática.

FONTE: O autor (2015)

3.3.3 Análise Estatística

A análise dos dados laboratoriais, clínicos e demográficos, assim como o estudo de correlação entre as concentrações de MBL e os escores SLEDAI e SLICC foram realizados com a utilização do software GraphPadPrism 5.0 (GraphPad Software, Inc., California, USA). A utilização do teste Kolmogorov-Smirnov permitiu definir a característica de não normalidade da variável em estudo.

Para a comparação entre medianas dos grupos foi utilizado o teste não paramétrico Mann-Whitney, e para as análises de associação foram realizados testes de independência entre variáveis por meio dos testes Chi-quadrado ou teste exato de Fisher bicaudal, conforme adequado. Quando apropriado, foi calculado o *odds ratio*, com intervalo de confiança de 95%. Para as análises de regressão logística binária foi utilizado o programa STATA 9.2 (STATA Corp, Texas, EUA). Foram considerados significativos valores de *p* menores ou iguais a 0,05. As análises de correlação foram realizadas por meio da Correlação de Spearman.

4 RESULTADOS

Os dados demográficos e os resultados obtidos na determinação das concentrações séricas de MBL dos pacientes estão descritos no APÊNDICE 1. Neste mesmo Apêndice constam o escore SLEDAI e SLICC calculados a partir de entrevista com os pacientes no momento da coleta e informações obtidas nos prontuários, respectivamente. O APÊNDICE 2 traz os dados sorológicos obtidos nos prontuários dos pacientes, enquanto as manifestações clínicas estão apresentadas no APÊNDICES 3 e 4. Os dados demográficos e a concentração de MBL do grupo controle estão demonstrados no APÊNDICE 5.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DE PACIENTES EM ESTUDO E DO GRUPO CONTROLE

O estudo foi desenvolvido com 195 pacientes com LES, sendo 180 indivíduos do gênero feminino (92,3%) e 15 do gênero masculino (7,7%), caracterizando uma proporção entre mulheres e homens de 12:1. A idade variou entre 17 e 67 anos (mediana: 40 anos) no momento da coleta das amostras. A maioria dos pacientes encontrava-se na faixa etária de 31 a 60 anos (68%); entre 17 e 30 anos eram 30% e acima de 60 anos eram apenas 2% (GRÁFICO 1). Quanto à etnia, 170 pacientes informaram sua ascendência, sendo que destes 35,3% se autodeclararam afrodescendentes e 64,7% eurodescendentes.

O tempo de doença dos pacientes compreendeu o período entre o diagnóstico de LES e a data da coleta das amostras. Observou-se que a maior parte dos pacientes tem a doença entre 5 e 10 anos (43,3%), apenas 23,2% possuem a doença a menos de 5 anos e 33,5% possuem LES a mais de 10 anos. Em relação à idade de início da doença, aqueles pacientes cujo diagnóstico de LES ocorreu antes dos 16 anos são considerados pacientes com LES juvenil, e acima desta idade a doença é classificada como LES adulto. No grupo em estudo, 194 pacientes possuíam esta informação, dos quais 23 (11,8%) foram diagnosticados com LES juvenil e 171 (88,1%) com LES adulto.

O grupo controle foi composto por 145 indivíduos saudáveis, cuja idade variou entre 18 e 63 anos, sendo que a maioria desses (64%) também se encontrava na faixa etária de 31 a 60 anos (GRÁFICO 2). Quanto ao gênero 126 (86,9%) eram do

gênero feminino e 19 (13,1%) do gênero masculino. Foi possível obter a etnia de 131 indivíduos dos quais 25,2% informaram ser afrodescendentes e 74,8% eurodescendentes (APÊNDICE 5).

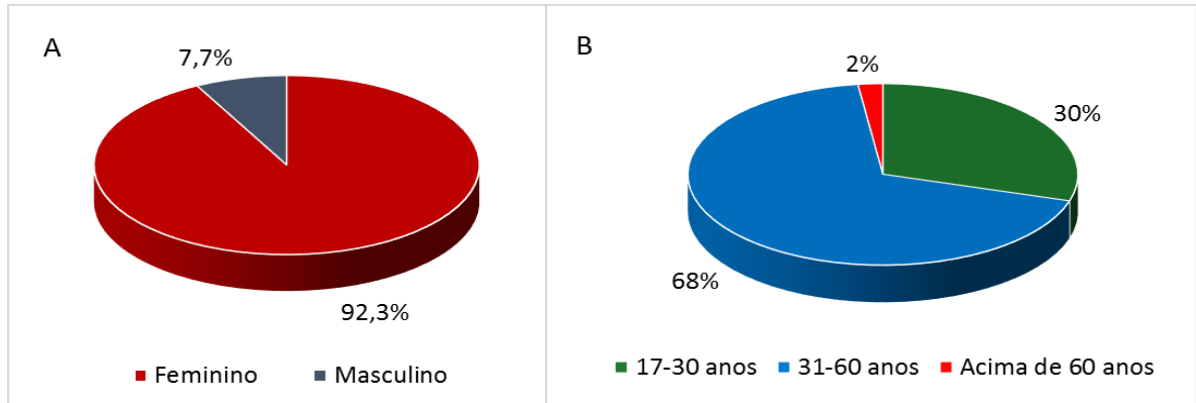


GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR GÊNERO (A) E FAIXA ETÁRIA (B)

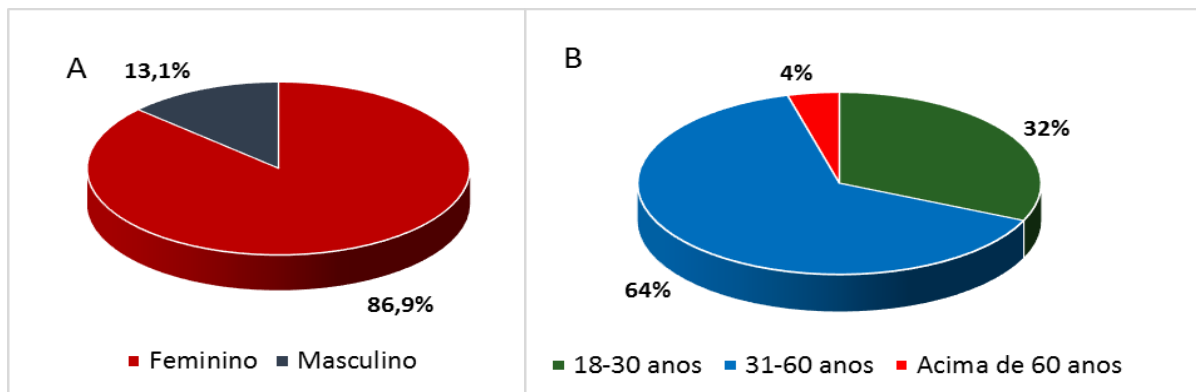


GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS CONTROLES POR GÊNERO (A) E FAIXA ETÁRIA (B)

As características demográficas dos pacientes e controles estão descritas na TABELA 1, e foram obtidas no momento da coleta das amostras de sangue e/ou nos prontuários dos pacientes. A etnia de alguns pacientes e controles, assim como alguns dados clínicos e sorológicos descritos na TABELA 2, não puderam ser determinados para a totalidade da população estudada, havendo portanto, uma variação no número total de indivíduos analisados em cada parâmetro.

TABELA 1 - DADOS DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES E CONTROLES

Grupo	Número	Gênero*		Mediana da idade*	Faixa etária	Etnia*	
		F	M			A	E
Pacientes	195	180	15	40 (29-47)	17-67	60	110
Controles	145	126	19	38 (28-50)	18-63	33	98

NOTA: * Não há diferença significativa entre os grupos. F=feminino; M= masculino.

A= afrodescendente; E= eurodescendente. A etnia foi determinada em 170 pacientes e 131 controles.

TABELA 2 - PERFIL CLÍNICO E SOROLÓGICO DOS PACIENTES COM LES

Dados	N	%	Gênero (%)		Etnia (%)	
			F	M	A	E
Fotossensibilidade	140/191	73,3	73,3	53,3	58,3	79,1
Artrite	113/194	58,2	58,9	46,7	56,7	57,3
Alopecia	99/192	51,5	53,9	13,3	56,7	47,3
Fenômeno de Raynaud	95/188	50,5	48,3	53,3	50,0	48,2
Rash Malar	94/193	48,7	49,4	33,7	36,7	55,4
Glomerulonefrite	85/186	45,7	40,6	80,0	46,7	41,8
Úlcera oral	86/192	44,8	46,7	13,3	45,0	49,1
Leucopenia	53/193	27,4	27,8	20,0	28,3	28,2
Plaquetopenia	43/191	22,5	22,8	13,3	20,0	25,4
Serosite	40/195	20,5	20,0	26,7	20,0	20,9
Linfocitopenia	29/181	16,0	14,4	20,0	18,3	12,7
Lesão discoide	24/192	12,5	11,1	26,7	11,7	13,6
Convulsões	23/192	11,9	11,1	20,0	13,3	11,8
Psicose	18/194	9,2	8,9	13,3	10,0	9,1
Anemia hemolítica	14/193	7,2	7,8	0	8,3	8,2
FAN	193/194	99,5	98,9	100	100	98,2
Anti-Ro	68/192	35,4	35,6	26,7	35,0	34,5
Anti-dsDNA	62/194	31,9	31,1	40,0	30,0	31,8
Anti-RNP	51/181	28,2	24,4	46,7	33,3	20,9
Anti-Sm	45/189	23,8	22,8	26,7	26,7	21,8
Anti-La	38/191	19,9	18,3	33,3	10,0	21,8
Anticardiolipina IgG	27/190	14,2	14,4	6,7	11,7	16,4
Anticardiolipina IgM	24/192	12,5	12,8	6,7	5,0	18,2
Anticoagulante lúpico	21/179	11,7	11,1	6,7	6,7	13,6

NOTA: FAN= Fator anti-nuclear; F=feminino; M= masculino. A= afrodescendente;

E= eurodescendente.

O GRÁFICO 3 ilustra as principais manifestações clínicas caracterizadas nos pacientes avaliados. A fotossensibilidade foi a manifestação clínica mais frequente, sendo observada em 73,3% (140/191) dos pacientes, embora artrite, alopecia, Fenômeno de Raynaud e *rash* malar também estejam presentes com frequência, compondo o quadro clínico da doença nos pacientes com LES em estudo.

Quanto aos dados sorológicos dos pacientes, destaca-se no GRÁFICO 4 o FAN, com positividade em 99,5% (193/194) dos mesmos, resultado obtido em algum momento da história clínica do paciente. Os demais autoanticorpos referem-se ao momento da coleta, devendo-se considerar que os pacientes se encontravam em tratamento na ocasião.

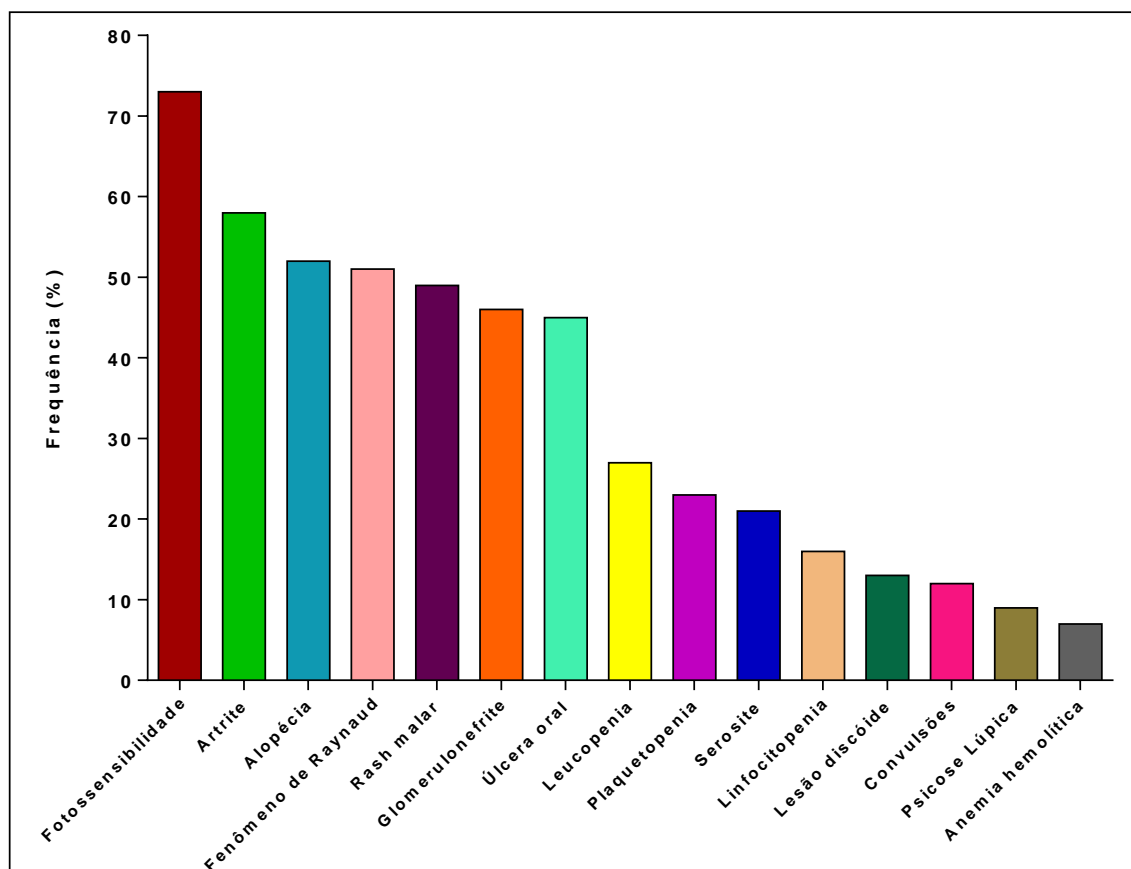


GRÁFICO 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES

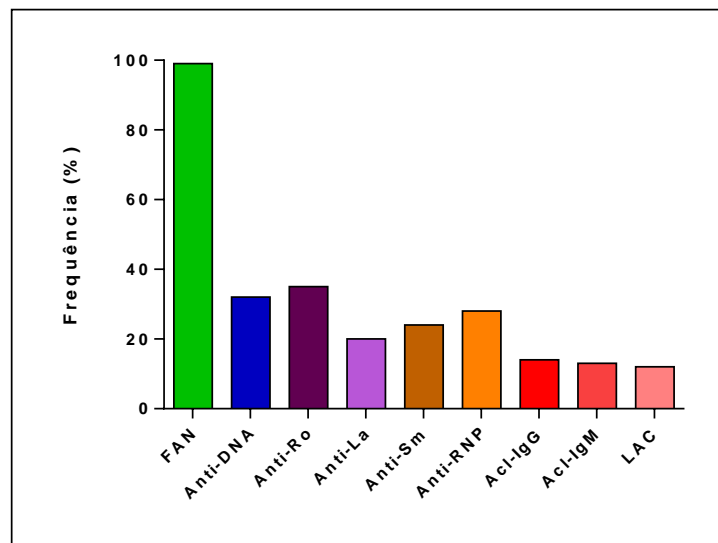


GRÁFICO 4 - PERFIL SOROLÓGICO DOS PACIENTES COM LES

NOTA: FAN= Fator anti-nuclear; Acl= anticardiolipina; LAC= anticoagulante lúpico; RNP= ribonucleoproteína;

4.2 CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL

4.2.1 Comparação entre os pacientes com LES e o grupo controle.

As concentrações séricas de MBL no grupo controle variaram entre 100 ng/mL e 4400 ng/mL, com mediana de 1200 ng/mL. No grupo de pacientes a mediana foi 1075 ng/mL e as concentrações variaram de 100 ng/mL a 4780 ng/mL, não atingindo diferença significativa. Os valores de “p” menores que 0,05, obtidos a partir do teste Kolmogorov-Smirnov, caracterizaram a ausência de normalidade na distribuição da variável “concentração de MBL”, pois indicam uma diferença estatisticamente significativa da curva normal esperada (Gaussiana).

Considerando apenas aqueles indivíduos com concentrações elevadas de MBL (≥ 2000 ng/mL), as medianas encontradas nos pacientes e controles diferiram significativamente (3350 vs. 3000 ng/mL, respectivamente. Mann-Whitney $p=0,0380$. TABELA 3 e GRÁFICO 5).

As concentrações de MBL em relação ao gênero também foram analisadas inter e intra grupos, não sendo encontrada diferença significativa entre os mesmos. De forma semelhante, quando foram analisadas as

concentrações de MBL em indivíduos com origens étnicas distintas, não houve diferença significativa (TABELA 3).

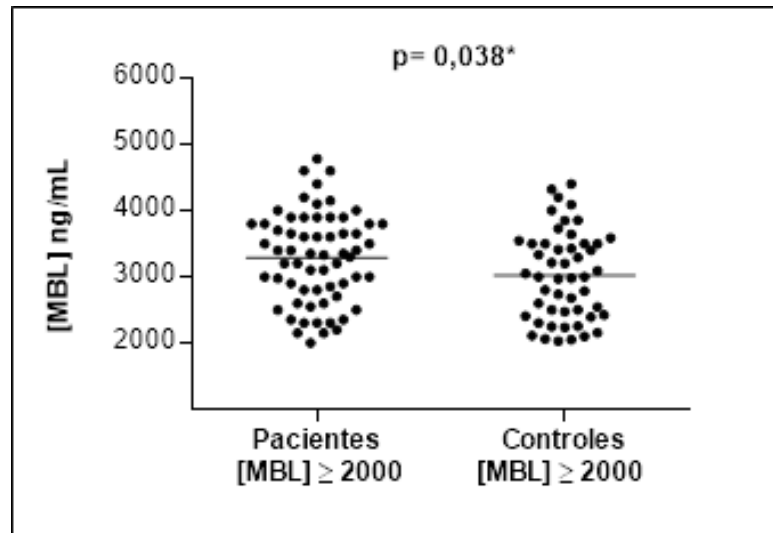


GRÁFICO 5 – ANÁLISE DAS CONCENTRAÇÕES ELEVADAS DE MBL NOS GRUPOS EM ESTUDO (≥ 2000 ng/mL).

NOTA: *Teste não paramétrico Mann-Whitney. Medianas.

TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES DE MBL (MEDIANA E IQR) NOS PACIENTES E CONTROLES DE ACORDO COM O GÊNERO E ETNIA

	Pacientes	Controles	p*
[MBL] ng/mL	1075 (225-2700)	1200 (400-2475)	0,411
[MBL] ≥ 2000 ng/mL	3350 (2800-3800)	3000 (2425-3500)	0,038
[MBL]ng/mL (A)	950 (250-2950)	925 (375-2050)	0,837
[MBL] ng/mL (E))	1125 (250-2600)	1222 (400-2500)	0,791
[MBL] ng/mL (F)	1025 (213-2600)	1132 (400-2404)	0,367
[MBL] ng/mL (M)	1500 (875-3600)	1300 (375-3000)	0,662
	Masculino	Feminino	p*
[MBL] ng/mL (P)	1500 (875-3600)	1025 (213-2600)	0,120
[MBL] ng/mL (C)	1300 (375-3000)	1132 (400-2404)	0,509
	Afrodescendentes	Eurodescendentes	p*
[MBL] ng/mL (P)	950 (250-2950)	1125 (250-2600)	0,874
[MBL] ng/mL (C)	925 (375-2050)	1222 (400-2500)	0,338

NOTA: * Mann Whitney. A: afrodescendente; E: eurodescendente; F: feminino; M: masculino; P: pacientes; C: controles. IQR= intervalo interquartilico.

Dentre os pacientes 15,4% (30/195) apresentaram concentrações diminuídas de MBL (≤ 100 ng/mL). Concentrações intermediárias (entre 100 e 2000 ng/mL) foram detectadas em 52,3% (102/195) dos pacientes, e em 32,3% (63/195) as concentrações de MBL foram elevadas (≥ 2000 ng/mL). Comparando com o grupo controle, não foi observada diferença significativa nas frequências obtidas (TABELA 4 e GRÁFICO 6).

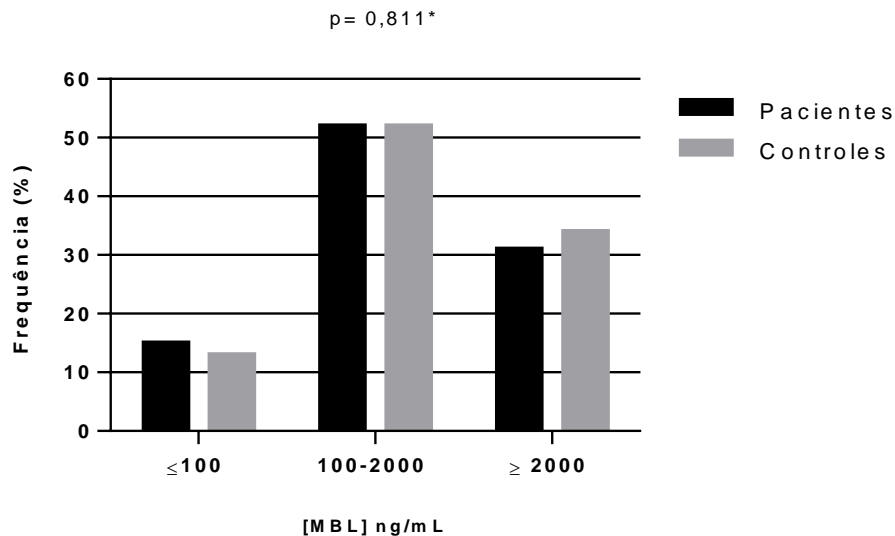


GRÁFICO 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES DE MBL

NOTA: * Teste Qui-quadrado.

Analisando separadamente as frequências de pacientes euro-descendentes nas três faixas de concentração de MBL, e comparando com indivíduos de mesma etnia do grupo controle, também não foi observada diferença significativa. O mesmo ocorreu entre pacientes e controles afro-descendentes (TABELA 4).

A mediana das concentrações de MBL em pacientes que tiveram o diagnóstico de LES juvenil (≤ 16 anos) foi significativamente superior à mediana dos pacientes que manifestaram o LES após os 16 anos de idade [2300 (975 - 3500) vs. 950 (200 - 2500) ng/mL, respectivamente, Mann-Whitney $p = 0,018$; GRÁFICO 7].

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES E CONTROLES DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES DE MBL

	≤100 ng/mL N (%)	100-2000 ng/mL N (%)	≥2000 ng/mL N (%)
Pacientes (n=195)	30 (15,4)	102 (52,3)	63 (32,3)
Controles (n=145)	19 (13,1)	76 (52,4)	50 (34,5)
p*	0,640	1,000	0,727
Pacientes afrodescendentes (n= 60)	6 (10,0)	35 (58,3)	19 (31,7)
Controles afrodescendentes (n= 33)	2 (6,1)	22 (66,6)	9 (27,3)
p*	0,708	0,508	0,814
Pacientes eurodescendentes (n=110)	17 (15,4)	54 (49,1)	39 (35,5)
Controles eurodescendentes (n= 98)	16 (16,3)	49 (50,0)	33 (33,7)
p*	1,000	1,000	0,884

NOTA: * Teste exato de Fisher.

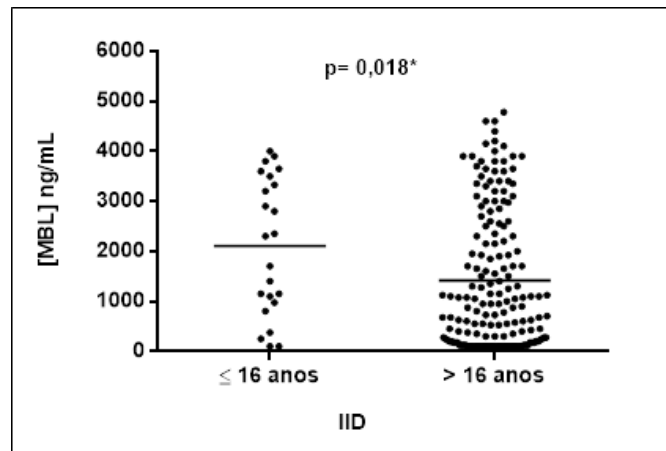


GRÁFICO 7 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL NOS PACIENTES DE ACORDO COM A IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA

NOTA: * Teste não paramétrico Mann-Whitney. Medianas. IID: idade de início da doença

4.2.2 Associação entre as concentrações de MBL e as características clínicas e sorológicas dos pacientes.

A distribuição dos pacientes com LES juvenil e adulto nas 3 faixas de concentração de MBL mostrou maior frequência de pacientes com concentrações

elevadas de MBL entre aqueles com LES juvenil, com tendência à significância ($p=0,055$. TABELA 5).

TABELA 5 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MBL DE ACORDO COM A IDADE DE INÍCIO DA DOENÇA

[MBL] ng/mL	≤ 16 anos (n= 23)	> 16 anos (n= 171)	p*
	N (%)	N (%)	
≤ 100 ng/mL	2 (9)	28 (17)	0,539
100-2000 ng/mL	9 (39)	92 (54)	0,266
≥ 2000 ng/mL	12(52)	51 (29)	0,055

NOTA: * Teste exato de Fisher

Na TABELA 6 estão relacionadas as diferentes manifestações clínicas dos pacientes com LES, bem como a mediana das concentrações de MBL de cada grupo de pacientes que apresenta ou não determinada manifestação.

A mediana das concentrações de MBL nos pacientes que apresentam manifestações neurológicas foi superior àquela obtida no grupo de pacientes sem essa manifestação, com tendência à significância (1400 vs. 950 ng/mL, Mann-Whitney $p= 0,065$). As manifestações neurológicas (psicose e convulsão) foram analisadas individualmente. Em relação à psicose não foi encontrada diferença significativa entre as medianas ($p=0,267$), enquanto nos pacientes com convulsão a mediana foi significativamente maior que aquela obtida no grupo de pacientes que não apresentam convulsão (2150 vs. 950 ng/mL, $p= 0,029$, respectivamente) (GRÁFICO 8). As demais comparações não foram significativas.

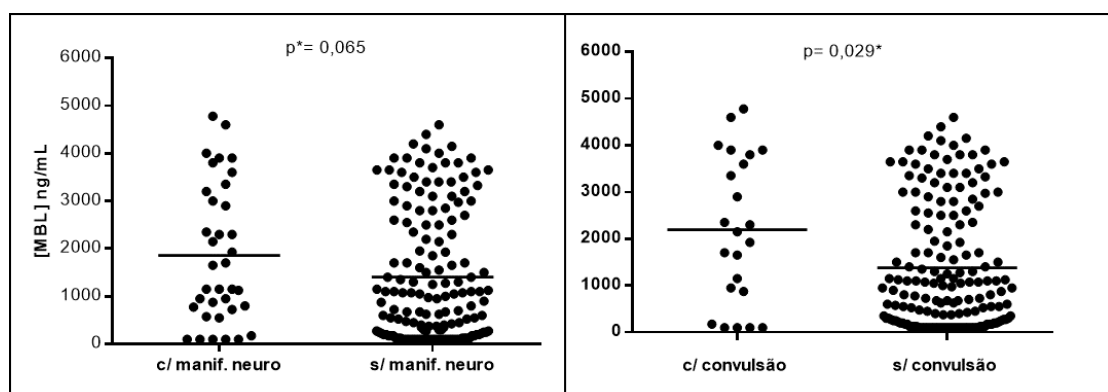


GRÁFICO 8 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL DE ACORDO COM A PRESENÇA DE MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS.

NOTA: * Teste não paramétrico Mann-Whitney. Medianas.

TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES DE MBL DE ACORDO COM AS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES

Manifestações clínicas	Mediana (IQR)		p*
	Presença	Ausência	
Artrite	1075 (237,5-2825)	1000 (187,5-2525)	0,589
Lesão discoide	1050 (412,5-2350)	1038 (200-2888)	0,990
Fotossensibilidade	1050 (200-2538)	1125 (275-2900)	0,382
<i>Rash</i> malar	1063 (293,8-2225)	1100 (200-2850)	0,833
Úlcera	1063 (293,8-2525)	1075 (218,8-2919)	0,830
Alopecia	1075 (225-2900)	1075 (225-2575)	0,834
Fenômeno de Raynaud	1050 (275-2850)	975 (187,5-2325)	0,420
Psicose Lúpica	1150 (762,5-2513)	1025 (200-2775)	0,267
Convulsões	2150 (875-3800)	950 (212,5-2525)	0,029
Serosite	1075 (125-1925)	1050 (250-2900)	0,384
Glomerulonefrite	1125 (387,5-2850)	975 (200-2650)	0,335
Leucopenia	1100 (450-3000)	975 (200-2588)	0,296
Plaquetopenia	2150 (250-3400)	1025 (225-2300)	0,117
Linfocitopenia	875 (100-1900)	1075 (250-2838)	0,164
Anemia hemolítica	737,5 (343,8-2438)	1075 (200-2700)	0,932
Manif. hematológicas	1088 (250-2888)	950 (212,5-2325)	0,343
Manif. neurológicas	1400 (737,5-3150)	950 (200-2600)	0,065

NOTA: * Teste não paramétrico Mann Whitney. Concentrações de MBL em ng/mL
IQR= intervalo interquartilico.

A frequência de pacientes que apresentaram manifestações cutâneas, neurológicas e hematológicas foi comparada com a frequência de pacientes que não apresentaram as mesmas, avaliando-se em relação às faixas de concentração de MBL (baixa, intermediária e elevada). A TABELA 7 traz as associações testadas e o nível de significância dos dados para cada manifestação individualmente.

Para as associações significativas identificadas neste estudo foram realizados testes de independência por regressão logística binária (modelo reduzido), considerando gênero, etnia, idade do paciente e idade de início da doença. *Odds ratio* e intervalos de confiança (IC) ajustados foram calculados

após as variáveis com contribuição insignificante terem sido eliminadas da análise.

TABELA 7 - FREQUÊNCIA DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE ACORDO COM A CONCENTRAÇÃO DE MBL DOS PACIENTES.

Manifestação clínica / [MBL] (ng/mL)	Presença N (%)	Ausência N (%)	p*
Artrite	N= 113	N= 81	
≤100	15 (13,3)	15 (18,5)	0,323
100-2000	59 (52,2)	43 (53,1)	0,089
≥ 2000	39 (34,5)	23 (28,4)	0,436
Lesão discóide	N= 24	N= 168	
≤100	3 (12,5)	27 (16,1)	1,000
100-2000	14 (58,3)	86 (51,2)	0,663
≥ 2000	7 (29,2)	55 (32,7)	0,819
Fotossensibilidade	N= 140	N= 51	
≤100	22 (15,7)	7 (13,7)	0,823
100-2000	76 (54,3)	24 (47,1)	0,415
≥ 2000	42 (30)	20 (39,2)	0,295
Rash Malar	N= 94	N= 99	
≤100	12 (12,8)	18 (18,2)	0,326
100-2000	58 (61,7)	43 (43,4)	0,014
≥ 2000	24 (25,5)	38 (38,4)	0,065
Úlcera oral	N= 86	N= 106	
≤100	12 (14)	16 (15)	0,841
100-2000	45 (52)	57 (54)	0,885
≥ 2000	29 (34)	33 (31)	0,757
Alopécia	N= 99	N= 93	
≤100	15 (15,1)	14 (15,1)	1,000
100-2000	51 (51,5)	49 (52,7)	0,885
≥ 2000	33 (33,3)	30 (32,2)	0,879
Fenômeno de Raynaud	N= 95	N= 93	
≤100	13 (13,7)	17 (18,3)	0,430
100-2000	50 (52,6)	50 (53,8)	0,885
≥ 2000	32 (33,7)	26 (27,9)	0,432
Psicose	N= 18	N= 176	
≤100	1 (5,6)	29 (16,5)	0,317
100-2000	11 (61,1)	90 (51,1)	0,466
≥ 2000	6 (33,3)	57 (32,4)	1,000

Manifestação clínica / [MBL] (ng/mL)	Presença N (%)	Ausência N (%)	p*
Convulsão	N= 23	N=169	
≤100	4 (17,4)	26 (15,4)	0,763
100-2000	7 (30,4)	94 (55,6)	0,027
≥ 2000	12 (52,2)	49 (29)	0,032
Serosite	N= 40	N= 155	
≤100	9 (22,5)	21 (13,6)	0,217
100-2000	22 (55)	80 (51,6)	0,726
≥ 2000	9 (22,5)	54 (34,8)	0,333
Glomerulonefrite	N= 85	N=101	
≤100	13 (15,3)	15 (14,9)	1,000
100-2000	43 (50,6)	55 (54,4)	0,666
≥ 2000	29 (34,1)	31 (30,7)	0,877
Leucopenia	N= 53	N= 140	
≤100	6 (11,3)	24 (17,2)	0,380
100-2000	28 (52,8)	73 (52,1)	1,000
≥ 2000	19 (35,9)	43 (30,7)	0,495
Plaquetopenia	N= 43	N= 148	
≤100	6 (14)	23 (15,5)	1,000
100-2000	15 (34,8)	85 (57,4)	0,015
≥ 2000	22 (51,2)	40 (27,1)	0,005
Linfocitopenia	N= 29	N= 152	
≤100	8 (27,6)	21 (13,8)	0,093
100-2000	14 (48,3)	81 (53,2)	0,687
≥ 2000	7 (24,1)	50 (33)	0,392
Anemia hemolítica	N= 14	N= 179	
≤100	1 (7,1)	29 (16,2)	0,700
100-2000	9 (64,3)	93 (52)	0,418
≥ 2000	4 (28,6)	57 (31,8)	1,000

NOTA: * Teste Exato de Fisher. Diferenças significativas estão em negrito.

Na tabela 7 pode-se observar uma associação significativa entre a frequência de pacientes com concentrações intermediárias de MBL (100-2000 ng/mL) e a presença de *rash* malar ($p= 0,014$), enquanto que naqueles pacientes com concentrações elevadas de MBL (≥ 2000 ng/mL) a ocorrência de *rash* malar foi menos frequente, sendo um resultado com tendência à significância ($p=0,065$). Após correção por regressão logística para a variável etnia, manteve-

se a associação entre a presença de *rash* malar e concentrações intermediárias de MBL ($p=0,013$; OR= 2,23; 95% IC 1,184 - 4,214).

O GRÁFICO 9A permite observar que 52,2% dos pacientes que apresentaram convulsão possuem concentração elevada de MBL (≥ 2000 ng/mL) e apenas 29% dos pacientes que não tem convulsão encontram-se também nesta faixa de concentração, caracterizando uma diferença significativa ($p=0,031$). Dentre os pacientes com concentrações intermediárias de MBL (entre 100 e 2000 ng/mL), 55,6% não apresentaram convulsão, enquanto a presença dessa manifestação foi observada em apenas 30,4% dos pacientes ($p=0,027$). Por meio da análise de regressão logística obteve-se os valores de *Odds ratio* e IC corrigidos para a idade dos pacientes ($p=0,034$; OR=2,61; 95% IC= 1,07 – 6,37 e $p=0,031$; OR=0,35; 95% IC= 0,14 – 0,91, respectivamente).

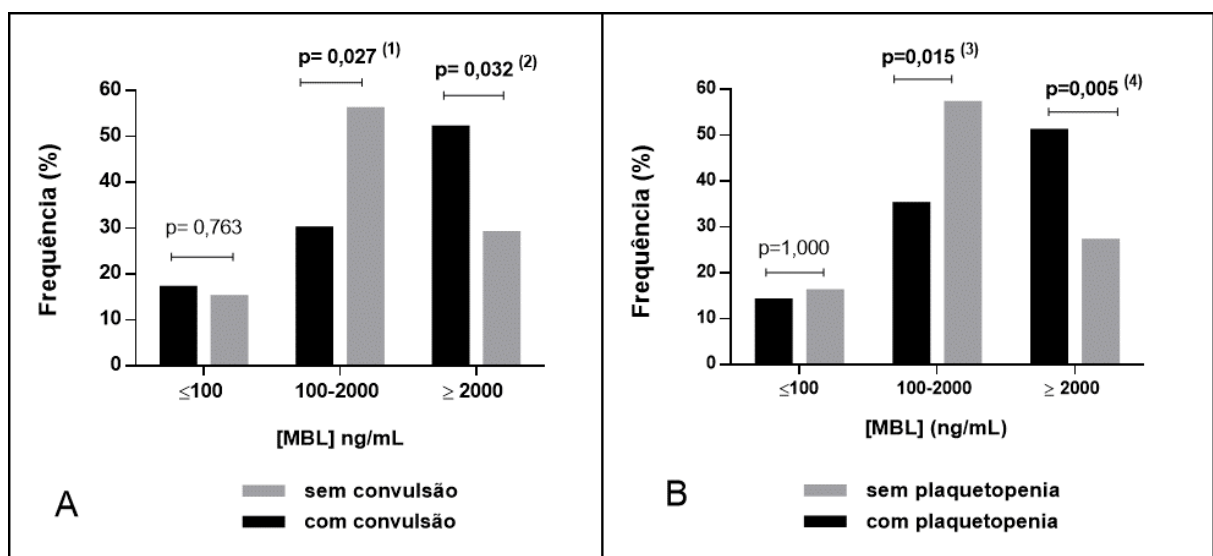


GRÁFICO 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DE MBL DE ACORDO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE PLAQUETOPENIA E CONVULSÃO

NOTA: Teste exato de Fisher e regressão logística binária

⁽¹⁾ 100 - 2000 ng/ml: com vs. sem convulsão ($p=0,027$)

($p=0,031$; OR=0,35; 95% IC= 0,14 – 0,91; correção por regressão logística)

⁽²⁾ ≥ 2000 ng/ml: com vs. sem convulsão ($p=0,032$)

($p=0,034$; OR=2,61; 95% IC= 1,07 – 6,37; correção por regressão logística)

⁽³⁾ 100 - 2000 ng/ml: com vs. sem plaquetopenia ($p=0,015$)

($p=0,013$; OR= 0,40; 95% IC= 0,20 – 0,83; correção por regressão logística)

⁽⁴⁾ ≥ 2000 ng/ml: com vs. sem plaquetopenia ($p=0,005$)

($p=0,007$; OR= 2,71; 95% IC= 1,32 – 5,55; correção por regressão logística)

Com relação à plaquetopenia, também foi encontrada frequência maior de pacientes com essa manifestação entre aqueles que apresentaram concentrações de MBL ≥ 2000 ng/mL (51,2% vs. 27,1%. $p= 0,005$). Entre os pacientes com concentrações de MBL entre 100 e 2000 ng/mL, uma frequência maior de pacientes sem plaquetopenia foi observada, quando comparados aos que apresentaram essa manifestação (57,4% vs. 34,8%, respectivamente; $P = 0.015$; GRÁFICO 9B). Para esta manifestação, os valores de OR e IC foram corrigidos por regressão logística binária para idade e idade de início da doença ($p= 0,007$; OR= 2,71; 95% IC= 1,32 – 5,55 e $p= 0,013$; OR= 0,40; 95% IC= 0,20 – 0,83, respectivamente).

Nas análises envolvendo as concentrações séricas de MBL dos pacientes e a positividade dos autoanticorpos, estes últimos foram agrupados em anti-DNA, Anti-Ro e anti-La, Anti-Sm e anti- RNP, e anticorpos antifosfolípides (anticardiolipina IgG e IgM e anticoagulante lúpico). Não foi encontrada associação entre a positividade para os autoanticorpos e as concentrações de MBL nos pacientes, tanto em relação às medianas (TABELA 09) como também em relação às frequências por faixa de concentração de MBL (TABELA 10). Foi considerado o resultado dos autoanticorpos no momento da coleta das amostras de sangue, cabendo considerar que os pacientes encontravam-se em tratamento.

TABELA 8 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL DE ACORDO COM AS CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS DOS PACIENTES

Autoanticorpos	Medianas (IQR)		p*
	Positivo	Negativo	
Anti-DNA	725 (200-2313)	1113 (250-2956)	0,207
Anti- Ro/ anti-La	1100 (175-3000)	1000 (250-2425)	0,840
Anti- RNP/ anti- Sm	962,5 (181,3-2775)	1088 (281,3-2675)	0,572
Antifosfolípides (aCl IgG, aCl IgM e LAC)	1100 (275-2313)	1000 (200-2600)	0,571

NOTA: * Teste Mann-Whitney. aCl= anticardiolipina; LAC = anticoagulante lúpico. IQR= intervalo interquartil. Medianas em ng/mL.

TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES EM FAIXAS DE CONCENTRAÇÃO DE MBL DE ACORDO COM AS CARACTERÍSTICAS SOROLÓGICAS

Anti-DNA			
	positivo (n=62)	negativo (n=132)	
[MBL] ng/mL	N (%)	N (%)	p*
≤ 100	10 (16,1)	20 (15,1)	0,835
100-2000	36 (58,1)	66 (50)	0,355
≥ 2000	16 (25,8)	46 (34,9)	0,249
Anti Ro e anti La			
	positivo (n=70)	negativo (n=121)	
[MBL] ng/mL	N (%)	N (%)	p*
≤ 100	12 (17,1)	18 (14,9)	0,684
100-2000	33 (47,2)	67 (55,4)	0,295
≥ 2000	25 (35,7)	36 (29,7)	0,423
Anti-RNP e anti-Sm			
	positivo (n=64)	negativo (n=116)	
[MBL] ng/mL	N (%)	N (%)	p*
≤ 100	11 (17,2)	17 (14,6)	0,672
100-2000	32 (50)	63 (54,3)	0,641
≥ 2000	21 (32,8)	36 (31,1)	0,867
aCl IgG, aCl IgM e LAC			
	positivo (n=46)	negativo (n=131)	
[MBL] ng/mL	N (%)	N (%)	p*
≤ 100	4 (8,7)	22 (16,8)	0,230
100-2000	28 (60,9)	69 (52,7)	0,391
≥ 2000	14 (30,4)	40 (30,5)	1,000

NOTA: * Teste exato de Fisher. aCl= anticardiolipina; LAC = anticoagulante lúpico

4.2.3 Correlação entre as concentrações séricas de MBL dos pacientes com LES e os índices SLEDAI e SLICC/ACR DI.

O escore SLEDAI foi calculado no momento da coleta das amostras de sangue para 189 pacientes. A análise de correlação entre o escore SLEDAI e as respectivas concentrações de MBL revelaram uma tendência à correlação positiva ($r=0,140$; $p=0,053$; GRÁFICO 10A). Ao efetuar a mesma análise, porém separando cada grupo étnico, não foi observada correlação. Faixas crescentes de concentração de MBL foram analisadas, separadamente (>100 , ≥ 2000 , ≥ 3000 ng/mL), resultando em correlações positivas de maior significância,

acompanhadas de aumento no grau de correlação (GRÁFICOS 10B, C, D, respectivamente).

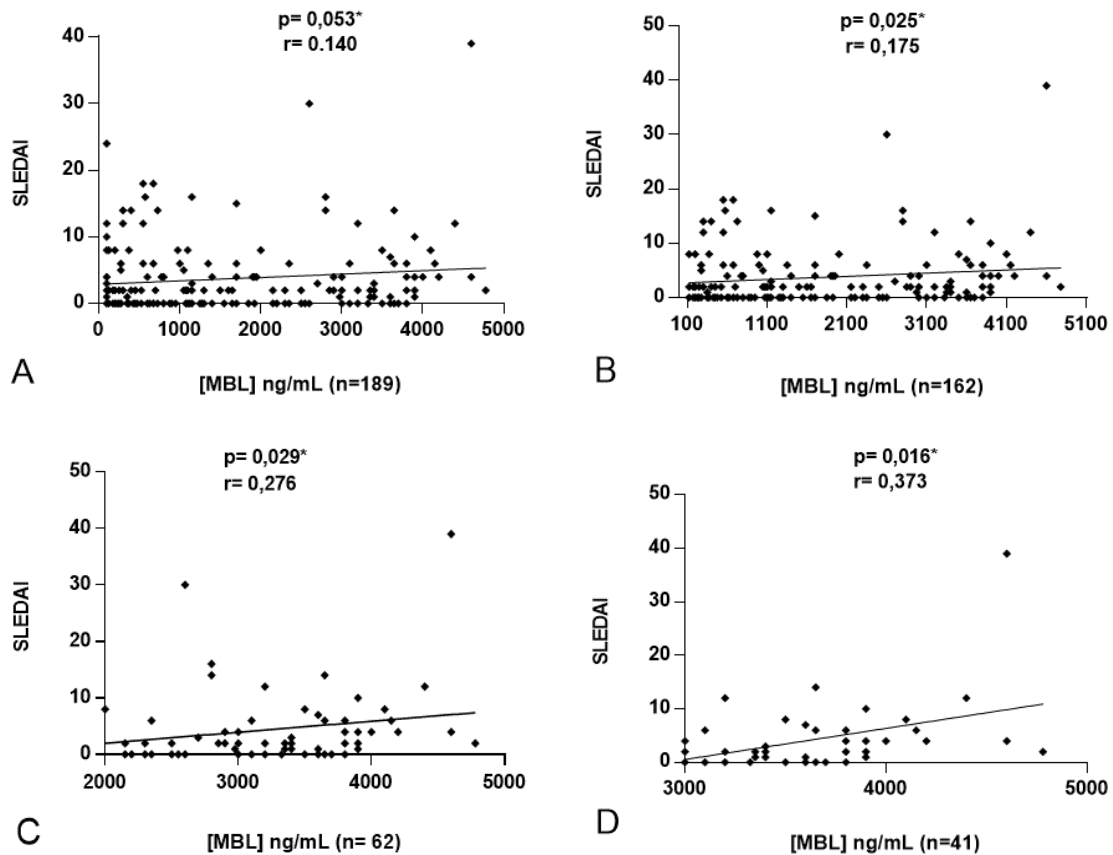


GRÁFICO 10 - CORRELAÇÕES ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O ESCORE SLEDAI DOS PACIENTES.

NOTA: * Correlação de Spearman. Todos os pacientes com escore SLEDAI e concentração de MBL (10A). Pacientes com escore SLEDAI e concentração de MBL >100 ng/ml (10B), ≥ 2000 ng/ml, (10C), ≥ 3000 ng/ml (2D).

Foi possível calcular o escore SLICC/ACR DI para 174 pacientes. Não foi encontrada correlação entre o escore SLICC/ACR DI e o tempo de doença do paciente. Também não foi observada associação significativa entre a etnia do paciente e a presença de danos mais graves (SLICC/ACR DI ≥ 3). A comparação entre as medianas das concentrações de MBL dos pacientes que tiveram pelo menos um dano acumulado (56,9% 99/174; SLICC/ACR DI ≥ 1) e aqueles que não apresentaram dano (43,1% 75/174; SLICC/ACR DI=0) não mostrou

diferença significativa (925 vs. 1150 ng/mL, respectivamente, $p=0,631$, teste não paramétrico Mann-Whitney).

As análises de correlação entre o dano acumulado observado no LES e as concentrações de MBL estão descritas na TABELA 10. Quando foram considerados na análise apenas os pacientes que apresentaram pelo menos um dano acumulado (SLICC/ACR DI ≥ 1) foi observada uma correlação positiva discreta ($p=0,021$, $r=0,232$, Correlação de Spearman; GRÁFICO 11).

TABELA 10 -CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O SLICC/ACR DI DOS PACIENTES

Condição	N	r	IC	p*
[MBL] ng/mL	174	0,055	-0,098 a 0,207	0,467
[MBL] > 100	146	0,114	-0,054 a 0,276	0,170
[MBL] ≥ 2000	57	0,065	-0,207 a 0,327	0,632
[MBL] ≥ 3000	39	0,162	-0,172 a 0,462	0,325
SLICC ≥ 1	99	0,232	0,030 a 0,415	0,021
SLICC ≥ 2	36	-0,068	-0,397 a 0,276	0,693
SLICC ≥ 3	22	-0,318	-0,660 a 0,133	0,149

NOTA: * Correlação de Spearman. N= número de observações incluídas. r= grau de correlação. IC= intervalo de confiança de 95%. SLICC/ACR DI= escore de dano acumulado.

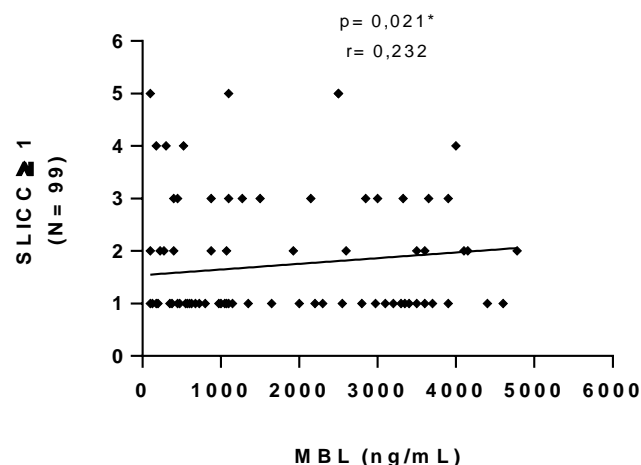


GRÁFICO 11 - CORRELAÇÃO POSITIVA ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E O ESCORE SLICC/ACR DI DE PACIENTES QUE APRESENTARAM PELO MENOS UM DANO IRREVERSÍVEL

As concentrações de MBL também foram comparadas com outros marcadores inflamatórios incluindo pentraxina 3, PCR, C3, C4, VHS e proteinúria. A

MBL (concentrações > 100 ng/mL) apresentou correlação positiva com pentraxina 3 ($p= 0,008$, $r= 0,290$) e proteinúria ($p= 0,025$, $r= 0,225$). Nenhuma correlação foi encontrada entre as concentrações de MBL e PCR, C3, C4, VHS e proteinúria em pacientes com glomerulonefrite.

5 DISCUSSÃO

Vários fatores estão relacionados ao fenótipo do LES nas diferentes populações. A influência hormonal parece evidente quando observamos que a maioria dos pacientes com LES são mulheres em idade reprodutiva (AGMON-LEVIN et al., 2012). No grupo em estudo, a média de idade dos pacientes foi de 39 anos; 92,3% eram mulheres e a proporção entre os gêneros foi de 12:1. Esta proporção pode variar de acordo com a região e etnia dos pacientes, sendo esperada uma proporção entre 8,1:1 e 19,3:1, conforme dados da literatura (BORBA et al., 2013). Um estudo do Grupo Latino Americano de Estudos do Lúpus (GLADEL) em 2015, com 1480 pacientes de diversos países latino-americanos, mostrou que 89,9% eram mulheres, em uma proporção de 9:1, no entanto, pacientes do sexo masculino apresentaram danos mais graves aos órgãos e maior taxa de mortalidade (PONS-ESTEL et al., 2015).

A média de idade de início da doença no presente estudo foi de 31 anos, sendo condizente com a variação encontrada na literatura (26,9–34,9 anos) (LIVINGSTON et al., 2011; MEDEIROS et al., 2015). Alguns estudos sugerem relação entre o aparecimento do LES e o uso de contraceptivos orais ou reposição hormonal (COSTENBADER et al., 2007; LERANG et al., 2012). Uma maior concentração de pacientes na faixa etária de 31-60 anos era esperada uma vez que a maioria dos pacientes (70%) tem entre cinco e 15 anos de tratamento. Acima de 60 anos a frequência de pacientes foi bem menor (2%), tanto devido à mortalidade precoce daqueles que manifestaram formas graves do LES na juventude ou idade adulta, como também pelo menor número de diagnósticos de LES nessa faixa etária. Os pacientes que manifestam a doença tardiamente, embora tenham uma tendência à menor atividade de doença, possuem mais danos irreversíveis e, conseqüentemente, maior índice de mortalidade, refletindo assim a importante contribuição de outras comorbidades no perfil clínico do paciente (FORMIGA et al., 1999; BERTOLI et al., 2006).

Em relação à etnia, quase dois terços dos pacientes eram eurodescendentes (64,7%). Borba et al. (2013) avaliaram um grupo de pacientes com LES da região Sudeste, cuja maioria (69,9%) também possuía ascendência européia. No entanto, Medeiros et al. (2015) estudaram um grupo de pacientes com LES na região Nordeste com proporção entre os gêneros de 14:1 e predomínio de

afrodescendentes (77,7%). Embora tenha sido relatada em outros estudos uma incidência elevada de LES em populações africanas ou afrodescendentes, é preciso considerar que a grande diversidade de raças existente no Brasil, somada à subjetividade inerente à classificação étnica, podem resultar em dados bastante divergentes ao comparar estudos de diferentes regiões do país e do mundo (BORCHERS et al., 2010; BORBA et al., 2013; MEDEIROS et al., 2015).

A frequência de manifestações clínicas do LES também pode variar de acordo com a etnia do paciente. Em afrodescendentes, a lesão discoide normalmente é mais frequente que fotossensibilidade e *rash* malar (BORCHERS et al., 2010). No presente estudo, a fotossensibilidade foi a manifestação clínica mais frequente (73,3%), enquanto lesão discoide esteve presente em apenas 12,5% dos pacientes. A prevalência de fotossensibilidade e *rash* malar variou significativamente de acordo com a etnia do paciente. Entre os pacientes com ascendência europeia 79,1% apresentaram fotossensibilidade ($p=0,007$) e 55,4% apresentaram *rash* malar ($p=0,02$), enquanto no grupo de pacientes afrodescendentes apenas 58,3% e 36,7%, respectivamente, apresentaram essas manifestações. Esta alta frequência de fotossensibilidade também pode ser devido ao clima brasileiro, com maior incidência de raios solares ao longo do ano, comparado aos países europeus (BORCHERS et al., 2010; BORBA et al., 2013).

A ascendência africana também é descrita como fator de risco para as manifestações neuropsiquiátricas precoces no LES (BORCHERS et al., 2010), no entanto, não foi observada diferença significativa na prevalência dessas manifestações entre os grupos étnicos deste estudo. As manifestações neuropsiquiátricas incluem mais de 19 tipos de manifestações, sendo convulsão e psicose as mais comumente relatadas. Tais manifestações têm importante contribuição na morbidade dos pacientes, e sua prevalência tem sido bastante variável. A frequência de convulsão, por exemplo, tem variado entre sete e 21%, comparando países de diferentes continentes. No estudo de Medeiros *et al.* (2015) convulsão e psicose estiveram presentes em 9,9% e 4,85% dos pacientes, respectivamente (MEDEIROS et al., 2015). No presente estudo, 11,9% apresentaram convulsão e 9,2% psicose decorrente do LES.

Quanto às características sorológicas dos pacientes, observou-se uma frequência de 99,5% de positividade para o FAN. Este dado sorológico refere-se a um determinado momento da história clínica do paciente, não sendo usual novas

determinações, pois a positividade ao FAN pode ou não ser alterada durante curso da doença, mesmo naqueles pacientes sob tratamento medicamentoso ou com doença ativa. Também tendem a permanecer inalterados os autoanticorpos anti-Ro, anti-La, anti-Sm e anti-RNP. Os anticorpos anti-dsDNA e antifosfolípides têm importância não apenas para o diagnóstico, mas também para o acompanhamento do LES. Considerando que no momento da coleta das amostras os pacientes encontravam-se em tratamento, eventuais alterações na positividade desses anticorpos são esperadas em decorrência da terapia medicamentosa e controle da doença.

A frequência de anti-dsDNA positivo (31,9%) foi consideravelmente menor em relação aos estudos realizados em diferentes países (70-80%) (CERVERA et al., 1993; BLANCO et al., 1995), embora esteja próximo aos resultados encontrados em outras regiões do Brasil. Borba *et. al.* encontrou uma positividade para anti-dsDNA de 35,1% em um estudo realizado em São Paulo, enquanto no estudo de Medeiros *et. al.*, realizado no Ceará, 40,4% dos pacientes foram positivos para este autoanticorpo (BORBA et al., 2013; MEDEIROS et al., 2015). Os títulos de anti-dsDNA podem aumentar durante os *flares* da doença, principalmente quando há nefrite, e baixar quando a mesma entra em remissão. O tratamento com altas doses de prednisona evita que a doença se torne ativa e também pode influenciar na positividade destes autoanticorpos (BOOTSMA et al., 1995; YANIV et al., 2015). Outros estudos também mostraram relação entre os títulos de anti-dsDNA, com a etnia e o gênero. Pacientes homens e/ou mestiços apresentaram títulos de anti-dsDNA significativamente maiores que mulheres e caucasianos, respectivamente (BORBA et al., 2013; PONS-ESTEL et al., 2015). Neste estudo, observou-se que a positividade para o anticorpo antifosfolípide aCl IgM foi significativamente mais frequente entre os pacientes eurodescendentes (18,2% vs. 5,0%, $p=0,018$).

Sabe-se que a idade de manifestação do LES tem influência no desfecho clínico que o paciente apresentará. Pacientes com LES juvenil (idade de início da doença ≤ 16 anos) apresentam com maior frequência *rash* malar, plaquetopenia, anemia hemolítica, convulsão e doença renal, com um curso da doença mais severo e pior prognóstico (LIVINGSTON et al., 2011). No presente trabalho, o LES juvenil foi caracterizado em 9% dos pacientes, e semelhante ao que foi observado em outros estudos, mostrou alta frequência de *rash* malar (58,8%), plaquetopenia (44%), anemia hemolítica (19%), convulsão (25%) e doença renal (71%).

Concentrações séricas de MBL nos pacientes e controles

A função da MBL na fisiopatogenia do LES tem sido explorada nos últimos anos, em especial nos estudos de polimorfismos do gene *MBL2* (MONTICIELO et al., 2010; SANDRIN-GARCIA et al., 2011; HO et al., 2012; XU et al., 2013). A presença de vários polimorfismos nas regiões promotora e codificadora do gene *MBL2* determinam alterações nas concentrações séricas de MBL, sendo que alguns polimorfismos foram associados com a susceptibilidade ao LES e outros com manifestações clínicas e laboratoriais da doença. Polimorfismos no exon 1 (códon 52, 54 e 57) determinam três variações alélicas estruturais, as quais estão associadas com deficiência de MBL. Na região promotora, foram descritos quatro haplótipos (LXP, LYP, LYQ, HYP) nas regiões 550, -221 e +4, sendo que o haplótipo HYP foi associado com concentrações séricas elevadas de MBL e o LXP com baixas concentrações (MONTICIELO et al., 2008; PRADHAN et al., 2010).

O polimorfismo gênico tem importante função na determinação das concentrações séricas de MBL nos indivíduos (MADSEN et al., 1995), inclusive em pacientes com LES, mas deve-se considerar ainda a influência de outros fatores como a secreção endócrina, fatores epigenéticos e a produção de anticorpos anti-MBL (MONTICIELO et al., 2008; BEST et al., 2009). A avaliação das concentrações séricas de MBL e sua relação com as manifestações clínicas do LES podem também ser úteis, inclusive numa fase precoce da doença, para indicar possíveis complicações que o paciente poderá apresentar. Estudos anteriores reportaram que a deficiência de MBL é 2 a 3 vezes mais comum em pacientes com LES do que na população em geral, e altas concentrações de MBL também já foram reportadas acompanhadas de altos títulos de anticorpos anti-MBL (FONT et al., 2007; PRADHAN et al., 2010).

No presente estudo, a mediana da concentração de MBL encontrada no grupo controle (1200 ng/mL) é consistente com os valores descritos para indivíduos saudáveis (MADSEN et al., 1995, 1998; CROSDALE et al., 2000; YTTING et al., 2007) e não difere significativamente das concentrações observadas em pacientes (mediana 1075 ng/mL), semelhante ao que já foi relatado em outros estudos (TAKAHASHI et al., 2005; BULTINK et al., 2006). A distribuição dos pacientes por faixas de concentração de MBL também foi muito semelhante ao perfil observado nos controles.

Nos estudos de Seelen *et al.* (2003), pacientes com LES apresentaram concentrações mais elevadas de MBL (mediana 2175 ng/mL no grupo sem atividade de doença e 2802 ng/mL para os pacientes com atividade) do que o grupo controle (mediana < 1000 ng/mL). Okasha *et al.* (2010), ao contrário, demonstraram que pacientes com LES e sem nefrite lúpica apresentaram menores concentrações de MBL (mediana 1600 ng/mL) do que os indivíduos saudáveis, nos quais a mediana se mostrou bastante elevada em relação aos resultados de outros estudos (mediana 2750 ng/mL) (SEELEN *et al.*, 2003; KAMAL OKASHA *et al.*, 2010). No presente estudo, quando apenas os indivíduos com concentrações de MBL superiores a 2000 ng/mL foram comparados, os pacientes apresentaram mediana significativamente maior que o grupo controle. Essas discrepâncias com relação à concentração de MBL em pacientes com LES de diferentes populações são esperadas, uma vez que os polimorfismos responsáveis pelas variações nas concentrações séricas de MBL são muito influenciados por fatores étnicos (MONTICIELO *et al.*, 2010).

Neste estudo, as concentrações de MBL também foram comparadas entre eurodescendentes e afrodescendentes, e entre os gêneros, sendo que os resultados também não apontaram diferenças significativas. Saevardsdottir *et al.* (2005) descreveram diferenças nas concentrações de MBL entre os gêneros, sendo mais elevada em indivíduos do sexo masculino (SAEVARSDOTTIR, 2005).

Estudos já revelaram associações entre MBL, *MBL2*, desenvolvimento do LES e características clínicas da doença (SANDRIN-GARCIA *et al.*, 2011), embora alguns resultados controversos também tenham sido obtidos (PIAO *et al.*, 2007; TSAI *et al.*, 2009). Novamente as diferenças étnicas entre as populações e o número limitado de pacientes e controles que compõem as análises comprometem a obtenção de resultados mais conclusivos (MONTICIELO *et al.*, 2010; HO *et al.*, 2012).

As análises envolvendo concentrações de MBL e manifestações clínicas do LES mostraram associações significativas em três diferentes sistemas: mucocutâneo, hematológico e neurológico.

As manifestações mucocutâneas são bastante comuns nos pacientes com LES (60-85%), dentre as quais o *rash* malar, cuja frequência em pacientes adultos varia entre 40 e 52% (CHIEWCHENGCHOL *et al.*, 2015). No presente estudo, 48,7% do total de pacientes apresentaram *rash* malar, dos quais mais da metade (58/94) possuíam concentrações intermediárias de MBL (100-2000 ng/mL), diferindo

significativamente da frequência de pacientes com concentrações intermediárias que não apresentaram essa manifestação (61,7% vs. 43,4%; $p=0,014$). O *Odds ratio* corrigido para etnia por regressão logística binária foi de 2,23, indicando que pacientes com concentrações de MBL entre 100 e 2000 ng/mL têm chance duas vezes maior de apresentar *rash* malar. Kim, *et al* (2009) associaram concentrações de MBL ≥ 500 ng/mL com a presença de manifestações cutâneas em pacientes com a doença autoimune Behcet's (KIM *et al.*, 2009). Sabe-se que a deposição de imunocomplexos e a liberação de citocinas, em especial o interferon tipo I, estão diretamente envolvidos no processo inflamatório cutâneo (DENG; TSOKOS, 2015). Wallim *et al* (2014) constataram deposição de MBL na pele de pacientes com LES que apresentaram lesão discoide em menor intensidade daquela observada em tecido renal, sugerindo que a participação do SC nessas duas manifestações ocorre por mecanismos distintos. Uma situação similar pode ocorrer no *rash* malar, pois parece não ser necessário concentrações elevadas de MBL para que o processo inflamatório ocorra na pele, ao contrário do que tem sido observado em manifestações sistêmicas (NISHIHARA *et al.*, 2013; WALLIM *et al.*, 2014).

Concentrações elevadas de MBL foram associados com aumento do risco de doença arterial coronariana em homens saudáveis e doença cardíaca crônica em pacientes com febre reumática (KELLER *et al.*, 2006; SCHAFRANSKI *et al.*, 2008). Outros estudos associaram altas concentrações de MBL com complicações vasculares em pacientes com Diabetes tipo I, bem como com maior risco para acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico nos pacientes com Diabetes tipo 2 (HANSEN *et al.*, 2004; SONG *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2014).

No grupo estudado, os pacientes com altas concentrações séricas de MBL (≥ 2000 ng/mL) tiveram risco quase três vezes maiores de apresentar plaquetopenia (OR=2,71) enquanto aqueles com concentrações intermediárias mostraram-se menos suscetíveis a essa manifestação.

Alterações hematológicas são comumente encontradas em pacientes com LES, com prevalência variando de 7 a 30% (KTONA *et al.*, 2014). No presente estudo, plaquetopenia esteve presente em 22,5% dos pacientes. A plaquetopenia tem importante contribuição na evolução dos danos aos órgãos em pacientes com LES e pode estar associada com progressão para condições mais graves (KTONA *et al.*, 2014). A ocorrência de plaquetopenia pode ser devido a vários fatores, incluindo alterações na medula óssea, aumento da destruição periférica de

plaquetas, e presença de autoanticorpos contra plaquetas e trombopoetina (MOK et al., 2000; ZIAKAS et al., 2008; KTONA et al., 2014) . Alterações na medula óssea podem ser decorrentes da presença de linfócitos autoreativos e da produção de citocinas pró-inflamatórias (KTONA et al., 2014).

A ativação do sistema complemento também possui reconhecida contribuição na injúria trombótica em pacientes com LES. Estudos experimentais em ratos demonstraram que mesmo na ausência de C3, a trombina pode ativar C5 levando à formação do complexo de ataque a membrana, C5b-9. Além disso, foi demonstrado que o complexo MBL-MASP é capaz de clivar protrombina em trombina (HUBER-LANG et al., 2006; KRARUP et al., 2007). Portanto, a ativação do SC pela via das lectinas pode resultar no aumento da agregação plaquetária, com formação de trombos, quando associada à injúria endotelial (BONTE et al., 2012).

A plaquetopenia tem sido descrita como uma das manifestações mais prevalentes em pacientes com LES juvenil (LIVINGSTON et al., 2011), característica essa também observada no presente estudo. Em relação às concentrações de MBL, os pacientes com LES juvenil apresentaram uma mediana significativamente superior à apresentada pelos demais pacientes. O resultado é condizente com a associação encontrada entre plaquetopenia e altas concentrações de MBL no total dos pacientes.

Algumas manifestações do lúpus se mostram frequentemente associadas com plaquetopenia, como por exemplo, manifestações neuropsiquiátricas, anemia hemolítica, síndrome antifosfolípide (SAF) e doença renal (FAYYAZ et al., 2015). Recentemente, manifestações neurológicas foram reportadas em 27,6% dos pacientes com LES e plaquetopenia, e uma associação significativa entre essas manifestações foi encontrada (ALEEM et al., 2014). No presente estudo, convulsão ocorreu em 35% dos pacientes com plaquetopenia, sendo uma das manifestações mais frequentes neste grupo. Semelhante ao observado nos pacientes com plaquetopenia, também se obteve uma associação significativa entre concentrações muito elevadas de MBL e a presença de convulsão. Na população de pacientes estudada, aqueles com altas concentrações de MBL (≥ 2000 ng/mL) têm um risco quase três vezes maior de apresentar convulsão (OR= 2,61), enquanto a presença de MBL em concentrações intermediárias (100-2000 ng/mL) pode representar um fator de proteção para o paciente.

Aproximadamente 50% dos pacientes com LES apresentam sintomas neuropsiquiátricos durante o curso da doença e, frequentemente, são sintomas precoces (KIVITY et al., 2015). Em um estudo de metanálise realizado por Unterman et al. (2011), foi demonstrada prevalência de 56% de Lúpus Neuropsiquiátrico (NPSLE), sendo a convulsão uma das manifestações mais frequentes (9,9%) (UNTERMAN et al., 2011). No presente estudo, 11,9% dos pacientes com LES apresentaram convulsão, dos quais 52,2% tinha concentrações de MBL acima de 2000 ng/mL.

O conhecimento sobre a fisiopatogenia do NPSLE ainda é limitado, mas algumas vias patogênicas têm sido identificadas, tais como: neurotoxicidade mediada por autoanticorpos, vasculopatia decorrente da presença de anticorpos antifosfolípidos, neurotoxicidade induzida por citocinas e perda da neuroplasticidade (KIVITY et al., 2015). Alguns autores consideram que a via final e comum às várias desordens psiquiátricas do LES está relacionada com alterações microvasculares (ZARDI et al., 2014). A vasculopatia de causa não inflamatória é decorrente da presença de autoanticorpos antifosfolípidos e anti-proteína P ribossomal, os quais possuem afinidade por antígenos neuronais, especificamente o antígeno P da superfície neuronal, e ocasionam a morte celular por apoptose (SCIASCIA et al., 2014; BRAVO-ZEHNDER et al., 2015). No presente estudo, 21,7% (5/23) dos pacientes com convulsão apresentaram positividade para pelo menos um anticorpo antifosfolípide (anticardiolipina IgG, IgM ou anticoagulante lúpico), no entanto, não foi observada associação significativa entre a presença de anticorpos antifosfolípidos e concentrações de MBL. Situação semelhante foi observada para os outros autoanticorpos determinados nos pacientes. Deve-se considerar, no entanto, que são pacientes em tratamento.

Anticorpos anti-proteína P ribossomal e anti-NR2 (receptores de glutamato) podem induzir a produção de citocinas inflamatórias como IL-8 por células endoteliais e IL-6 por macrófagos. Essas citocinas podem causar inflamação da barreira hemato-encefálica (BHE), permitindo a entrada dos autoanticorpos no cérebro (TOUBI; SHOENFELD, 2007; YOSHIO et al., 2013). Anticorpos anti-DNA também podem migrar para o SNC e contribuir para a apoptose neuronal (DIAMOND et al., 2015). Por sua vez, anticorpos anti-receptor GABA também foram encontrados no liquor e soro de pacientes com NPSLE (KIVITY et al., 2015). A MBL é uma proteína pró-inflamatória mediadora da produção de citocinas, entre as quais tem-se

a IL-6 produzida por macrófagos (BELTRAME et al., 2015). Desta forma, níveis muito elevados dessa lectina podem favorecer uma maior liberação de citocinas capazes de causar inflamação da BHE e afetar sua integridade, favorecendo a exposição do tecido cerebral aos autoanticorpos circulantes.

Mikdashi et al, (2004) utilizando os índices SLICC e SLEDAI, demonstraram que a atividade da doença, a etnia caucasiana e a presença de anticorpos antifosfolípidos e anti-Ro/SSA são fatores preditivos de danos neuropsiquiátricos em pacientes com LES (MIKDASHI; HANDWERGER, 2004). Neste trabalho, também foi encontrada uma correlação positiva fraca entre as concentrações de MBL e a atividade da doença, a qual foi acentuada quando apenas concentrações elevadas de MBL foram consideradas na análise. Esses resultados corroboram com os resultados de Panda et. al (2012) os quais demonstraram o potencial da MBL como marcador da atividade da doença. (PANDA et al., 2012). Estudos anteriores haviam citado a MBL apenas como um biomarcador da susceptibilidade ao LES (ILLEI et al., 2004; KELLEY et al., 2010; AHEARN et al., 2012).

Sutton et al. (2013) desenvolveram uma revisão sistemática a respeito dos fatores que influenciam o escore SLICC dos pacientes com LES e observaram que a incidência de danos irreversíveis é maior em fases iniciais da doença, alterações renais e neuropsiquiátricas são importantes preditores de danos irreversíveis, e a presença de algumas citocinas pró-inflamatórias, assim como uma atividade da doença persistente, também têm influência em danos irreversíveis futuros (SUTTON et al., 2013). No presente estudo, a MBL apresentou correlação positiva discreta com o escore SLICC/ACR DI, sugerindo uma relação entre altas concentrações de MBL e o desenvolvimento de danos irreversíveis após o diagnóstico de LES, como por exemplo, lesão renal grave (PANDA et al., 2012; NISHIHARA et al., 2013).

Entre os 22 pacientes que apresentaram escore SLICC ≥ 3 , 50% apresentaram concentrações elevadas de MBL, 63,6 % tinham LES há mais de 10 anos, e os danos irreversíveis mais frequentes nos pacientes foram transplante renal, alterações neurológicas e complicações cardiovasculares. As informações provenientes do escore SLICC/ACR DI calculado neste estudo podem estar em desacordo com outros estudos (GUARIZE et al., 2004; BRUCE et al., 2014), devido ao longo período de acompanhamento e tratamento dos pacientes. Como a atividade da doença foi verificada em um único momento, não foi possível avaliar a sua persistência e, conseqüentemente, sua influência no escore SLICC/ACR DI.

Outros fatores como a terapia imunossupressora e corticosteroides também podem influenciar nos futuros danos que o paciente poderá apresentar (SUTTON et al., 2013).

A MBL também tem sido descrita como uma proteína de fase aguda, embora sua elevação seja bastante discreta, quando comparada à proteína C reativa (PCR), não superando 3 vezes (ARAI et al., 1993), e ambas parecem fornecer informações diferentes a respeito do quadro inflamatório. Seelen *et al.* (2003) não observaram diferença significativa entre as concentrações de MBL durante a atividade da doença e na fase de remissão. Tsai *et al.* (2011) observou uma diminuição significativa na concentração de MBL quando o paciente com doença ativa passou para um estágio de remissão, no entanto, essa concentração permaneceu maior que aquelas observadas no grupo controle. Esta proteína também não apresentou correlação com outros marcadores inflamatórios como PCR e fibrinogênio (SEELLEN et al., 2003; BEST et al., 2009; TSAI et al., 2011).

No presente estudo não foi encontrada correlação entre MBL e PCR, corroborando com outros estudos anteriores (HANSEN et al., 2004). A pentraxina 3 pertence à família das pentraxinas, assim como a PCR, também está envolvida nas respostas de fase aguda e remoção de corpos apoptóticos, e tem sido citada como um marcador de doença cardiovascular, com participação na trombogênese e em eventos neurológicos (NAUTA et al., 2003). Além disso, a pentraxina 3 apresentou correlação com proteinúria e com o escore SLICC/ACR-DI em pacientes com LES (SKARE et al., 2015). Neste estudo, foi encontrada uma correlação positiva entre MBL e pentraxina 3, sugerindo que estas duas proteínas estão envolvidas na resposta inflamatória, podendo levar à proteinúria e danos teciduais no LES.

Para uma avaliação mais profunda das características da MBL como uma proteína de fase aguda, é necessário determinar as concentrações de MBL em outros estágios da doença. Este fato pode representar uma limitação deste estudo.

A análise das concentrações séricas de MBL em pacientes com LES revelou achados importantes e ainda não descritos na literatura para esta doença, como a associação entre altas concentrações de MBL e presença de plaquetopenia e convulsão. Tais resultados reafirmam a função da MBL na fisiopatologia do LES, e sugerem uma relevante participação da mesma no desenvolvimento de manifestações clínicas graves para o paciente, indicando que a MBL pode ser uma

ferramenta muito útil para determinar o prognóstico do paciente, principalmente se empregada em uma fase precoce da doença.

O presente estudo também reforça o potencial da MBL como biomarcador da atividade da doença e ainda sugere sua relação com o desenvolvimento de dano acumulado irreversível. Portanto, tais resultados estimulam novos estudos que contemplem a análise das concentrações séricas dessa proteína em outras populações, bem como estudos de polimorfismos no gene *MBL2*, a fim de determinar principalmente variantes gênicas relacionadas à alta produção desta proteína em pacientes com LES e confirmar a real relação entre concentrações elevadas de MBL e as manifestações clínicas da doença.

6 CONCLUSÕES

A análise dos dados do presente estudo levou às seguintes conclusões:

- Concentrações elevadas de MBL (≥ 2000 ng/mL) podem estar relacionadas com o desenvolvimento do LES na população em estudo. No entanto, a frequência de pacientes por faixas de concentração de MBL não diferiu significativamente daquela observada no grupo controle.
- A ocorrência de LES juvenil apresentou relação com a presença de altas concentrações de MBL nos pacientes. Analisando o gênero e a etnia, não foi observada associação.
- As concentrações séricas de MBL não mostraram relação com dados sorológicos dos pacientes com LES.
- Concentrações intermediárias de MBL elevaram o risco do paciente apresentar *rash* malar e favorecem o processo inflamatório cutâneo característico dessa manifestação.
- Altas concentrações de MBL indicaram fator de risco aumentado para a presença de plaquetopenia e convulsão na população de pacientes com LES estudada. Concentrações intermediárias de MBL podem exercer um efeito protetor para tais manifestações.
- Concentrações elevadas de MBL se correlacionaram positivamente com a atividade da doença (SLEDAI), e apresentaram uma correlação discreta com dano tecidual acumulado (SLICC/ACR DI ≥ 1) observado em pacientes com LES.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A. H., PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. Trad. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 321-348.
- ÁBEL, G.; AGNELLO, V. **Systemic Lupus Erythematosus**. Elsevier, 2004.
- AGMON-LEVIN, N.; MOSCA, M.; PETRI, M.; SHOENFELD, Y. Systemic lupus erythematosus one disease or many? **Autoimmunity Reviews**, v. 11, n. 8, p. 593–595, 2012. Elsevier B.V.
- AHEARN, J. M.; LIU, C.-C.; KAO, A. H.; MANZI, S. Biomarkers for systemic lupus erythematosus. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 159, n. 4, p. 326–42, 2012.
- ALEEM, A.; SAUD, A.; ARFAJ, A.; ALARFAJ, H. Haematological abnormalities in systemic lupus erythematosus. **Acta reumatol. port.**, p. 236–241, 2014.
- ARAI, T.; TABONA, P.; SUMMERFIELD, J. A. Human mannose-binding protein gene is regulated by interleukins, dexamethasone and heat shock. **The Quarterly journal of medicine**, v. 86, n. 9, p. 575–82, 1993.
- ARNETT, F. C.; EDWORTHY, S. M.; BLOCH, D. A.; et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis and rheumatism**, v. 31, n. 3, p. 315–24, 1988.
- AZEVEDO, J. S. DE; ADDOBBATI, C.; SANDRIN-GARCIA, P.; CROVELLA, S. Systemic Lupus Erythematosus: Old and New Susceptibility Genes versus Clinical Manifestations. **Current genomics**, v. 15, p. 52–65, 2014.
- BARILLA-LABARCA, M.-L.; TODER, K.; FURIE, R. Targeting the complement system in systemic lupus erythematosus and other diseases. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 148, n. 3, p. 313–21, 2013. Elsevier B.V.
- BELTRAME, M. H.; CATARINO, S. J.; GOELDNER, I.; BOLDT, A. B. W.; MESSIAS-REASON, I. J. DE. The Lectin Pathway of Complement and Rheumatic Heart Disease. **Frontiers in Pediatrics**, v. 2, n. January, p. 1–14, 2015.
- BERTOLI, A. M.; ALARCÓN, G. S.; CALVO-ALÉN, J.; et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort. XXXIII. Clinical [corrected] features, course, and outcome in patients with late-onset disease. **Arthritis and rheumatism**, v. 54, n. 5, p. 1580–7, 2006.
- BEST, L. G.; FERRELL, R. E.; DECROO, S.; et al. Genetic and other factors determining mannose-binding lectin levels in American Indians: the Strong Heart Study. **BMC medical genetics**, v. 10, p. 5, 2009.

- BLANCO, F. J.; LA MATA, J. DE; GÓMEZ-REINO, J. J.; et al. [Clinical and serological manifestations of 307 Spanish patients with systemic lupus erythematosus. Comparison with other ethnic groups]. **Revista clínica española**, v. 195, n. 8, p. 534–40, 1995.
- BOLDT, A. B. W.; GOELDNER, I.; MESSIAS-REASON, I. J. T. DE. Chapter 4 – Relevance of the lectin pathway of complement in rheumatic diseases. **Advances in Clinical Chemistry**. v. 56, p.105–153, 2012.
- BONTE, L. R. LA; PAVLOV, V. I.; TAN, Y. S.; et al. MBL-Associated Serine Protease -1 (MASP-1) is a Significant Contributor to Coagulation in a Murine Model of Occusive Thrombosis. **Journal of immunology**, v. 188, n. 2, p. 885–891, 2012.
- BOOTSMA, H.; SPRONK, P.; DERKSEN, R.; et al. Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus. **Lancet (London, England)**, v. 345, n. 8965, p. 1595–9, 1995.
- BORBA, E. F.; ARAUJO, D. B.; BONFÁ, E.; SHINJO, S. K. Clinical and immunological features of 888 Brazilian systemic lupus patients from a monocentric cohort: comparison with other populations. **Lupus**, v. 22, n. 7, p. 744–9, 2013.
- BORCHERS, A. T.; NAGUWA, S. M.; SHOENFELD, Y.; GERSHWIN, M. E. The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity reviews**, v. 9, n. 5, p. A277–87, 2010.
- BOTEVA, L.; MORRIS, D. L.; CORTÉS-HERNÁNDEZ, J.; et al. Genetically determined partial complement C4 deficiency states are not independent risk factors for SLE in UK and Spanish populations. **American journal of human genetics**, v. 90, n. 3, p. 445–56, 2012.
- BRAVO-ZEHNDER, M.; TOLEDO, E. M.; SEGOVIA-MIRANDA, F.; et al. Anti-Ribosomal P Protein Autoantibodies From Patients With Neuropsychiatric Lupus Impair Memory in Mice. **Arthritis & Rheumatology**, v. 67, n. 1, p. 204–214, 2015.
- BRUCE, I. N.; O'KEEFFE, A. G.; FAREWELL, V.; et al. Factors associated with damage accrual in patients with systemic lupus erythematosus: results from the Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) Inception Cohort. **Annals of the rheumatic diseases**, p. 1–8, 2014.
- BULTINK, I. E. M.; HAMANN, D.; SEELEN, M. A; et al. Deficiency of functional mannose-binding lectin is not associated with infections in patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis research & therapy**, v. 8, n. 6, p. R183, 2006.
- BUYON, J. P.; PETRI, M. A.; KIM, M. Y.; et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. **Annals of internal medicine**, v. 142, n. 12 Pt 1, p. 953–62, 2005.

CARDOSO, C. R. L.; SIGNORELLI, F. V.; PAPI, J. A. S.; SALLES, G. F. Initial and accrued damage as predictors of mortality in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus: a cohort study. **Lupus**, v. 17, n. 11, p. 1042–8, 2008.

CARVALHO, E. G. DE. Investigação da lectina ligante de manose (MBL) em pacientes com Doença Celíaca. **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná**, p. 101, 2006.

CARVALHO, E. G.; UTIYAMA, S. R. R.; KOTZE, L. M. S.; REASON, I. T. M. Lectina ligante de manose (MBL): características biológicas e associação com doenças and diseases association. **Rev. bras. alerg. imunopatol.**, v. 30, n. 5, p. 187–193, 2007.

CASTREJÓN, I. Índices compuestos para evaluar la actividad de la enfermedad y el ~ estructural en pacientes con lupus eritematoso : revisión da no sistemática de la literatura. **Reumatol Clin.**, v. 10, n. 5, p. 309–320, 2014.

CASTRO, J.; BALADA, E.; ORDI-ROS, J.; VILARDELL-TARRÉS, M. The complex immunogenetic basis of systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity reviews**, v. 7, n. 5, p. 345–51, 2008.

CERIBELLI, A.; ANDREOLI, L.; CAVAZZANA, I.; et al. Complement cascade in systemic lupus erythematosus: analyses of the three activation pathways. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1173, p. 427–34, 2009.

CERVERA, R.; KHAMASHTA, M. A.; FONT, J.; et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. **Medicine**, v. 72, n. 2, p. 113–24, 1993.

CHEN, M.; DAHA, M. R.; KALLENBERG, C. G. M. The complement system in systemic autoimmune disease. **Journal of autoimmunity**, v. 34, n. 3, p. J276–86, 2010.

CHIEWCHENGCHOL, D.; MURPHY, R.; EDWARDS, S. W.; BERESFORD, M. W. Mucocutaneous manifestations in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a review of literature. **Pediatric rheumatology online journal**, v. 13, p. 1, 2015.

CHIU, Y. Y.; NISIHARA, R. M.; WÜRZNER, R.; KIRSCHFINK, M.; MESSIAS-REASON, I. J. DE. SC5b-9 is the most sensitive marker in assessing disease activity in Brazilian SLE patients. **Journal of investigational allergology & clinical immunology**, v. 8, n. 4, p. 239–44, 1998.

CICONELLI, R. M. Medidas de avaliação em lúpus eritematoso sistêmico. **Rev Bras Reumatol**, v. 51, n. 1, p. 75–80, 2011.

COSTENBADER, K. H.; FESKANICH, D.; STAMPFER, M. J.; KARLSON, E. W. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. **Arthritis and rheumatism**, v. 56, n. 4, p. 1251–62, 2007.

COZZANI, E.; DROSE, M.; GASPARINI, G.; PARODI, A. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. **Autoimmune diseases**, v. 2014, p. 321359, 2014.

CROSDALE, D. J.; OLLIER, W. E.; THOMSON, W.; et al. Mannose binding lectin (MBL) genotype distributions with relation to serum levels in UK Caucasoids. **European journal of immunogenetics : official journal of the British Society for Histocompatibility and Immunogenetics**, v. 27, n. 3, p. 111–7, 2000.

DEGN, S. E.; THIEL, S. Humoral Pattern Recognition and the Complement System. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 78, p. 181–193, 2013.

DELLAVANCE, A.; JÚNIOR, A. G.; CINTRA, A. F. U.; et al. CONSENSUS I Consenso Nacional para Padronização dos Laudos de FAN HEp-2 The first Brazilian Consensus for Standardization of ANA in HEp-2 Cells. **Jornal Brasileiro De Patologia E Medicina Laboratorial**, v. 38, p. 207–116, 2001.

DENG, G.-M.; TSOKOS, G. C. Pathogenesis and targeted treatment of skin injury in SLE. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 11, n. 11, p. 663–669, 2015. Nature Publishing Group.

DIAMOND, B.; VOLPE, B. T.; DISEASES, M. A model for lupus brain disease. **Immunol Rev.**, v. 248, n. 1, p. 56–67, 2015.

ENDO, Y.; MATSUSHITA, M.; FUJITA, T. The role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 43, n. 5, p. 705–12, 2011. Elsevier Ltd.

FAYYAZ, A.; IGOE, A.; KURIEN, B. T.; et al. Haematological manifestations of lupus. **Lupus Science & Medicine**, v. 2, p. e000078–e000078, 2015.

FONT, J.; RAMOS-CASALS, M.; BRITO-ZERÓN, P.; et al. Association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with antiphospholipid syndrome, cardiovascular disease and chronic damage in patients with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 46, n. 1, p. 76–80, 2007.

FORMIGA, F.; MOGA, I.; PAC, M.; et al. Mild presentation of systemic lupus erythematosus in elderly patients assessed by SLEDAI. SLE Disease Activity Index. **Lupus**, v. 8, n. 6, p. 462–5, 1999.

GATTO, M.; ZEN, M.; GHIRARDELLO, A.; et al. Emerging and critical issues in the pathogenesis of lupus. **Autoimmunity reviews**, v. 12, n. 4, p. 523–36, 2013.

GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, D. T. B. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features. **Eular On-line Course on Rheumatic Diseases**, , n. 1909, p. 476–505, 2012.

GLADMAN, D. D.; UROWITZ, M. B.; GOLDSMITH, C. H.; et al. The reliability of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of

Rheumatology Damage Index in patients with systemic lupus erythematosus. **Arthritis and rheumatism**, v. 40, n. 5, p. 809–13, 1997.

GLADMAN, D.; UROWITZ, M.; GOLDSMITH, C.; et al. The reliability of the systemic Lupus International Collaborating Clinics American College of Rheumatology Damage Index in patients with Systemic Lupus Erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 40, n. 5, p. 809–813, 1997.

GOELDNER, I.; SKARE, T. L.; UTIYAMA, S. R.; et al. Mannose binding lectin and susceptibility to rheumatoid arthritis in brazilian patients and their relatives. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e95519, 2014.

GOTTSCHALK, T. A.; TSANTIKOS, E.; HIBBS, M. L. Pathogenic Inflammation and Its Therapeutic Targeting in Systemic Lupus Erythematosus. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. October, 2015.

GRAHAM, R. R.; ORTMANN, W. A.; LANGEFELD, C. D.; et al. Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. **American journal of human genetics**, v. 71, n. 3, p. 543–53, 2002.

GUARIZE, J.; APPENZELLER, S.; LAVRAS, T. Avaliação do Índice de Danos Permanentes através do SLICC / ACR-DI em Pacientes Brasileiros com Lúpus Eritematoso Sistêmico (*) Cumulative Organ Damage Evaluation Using the SLICC / ACR-DI in Brazilian Patients with Systemic Lupus Erythematosus. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 44, p. 109–114, 2004.

HANSEN, T. K.; TARNOW, L.; THIEL, S.; et al. Association Between Mannose-Binding Lectin and Vascular Complications in Type 1 Diabetes. **Diabetes**, v. 53, n. June, p. 1570–1576, 2004.

HEITZENEDER, S.; SEIDEL, M.; FÖRSTER-WALDL, E.; HEITGER, A. Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 143, n. 1, p. 22–38, 2012.

HO, Y.; LEE, L. H.; JAE, S. The association between the mannose-binding lectin codon 54 polymorphism and systemic lupus erythematosus : a meta-analysis update. **Mol Biol Rep**, v. 39, p. 5569–5574, 2012.

HOCHBERG, M. C. Updating the American College of Rheumatology Revised criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. **Arthritis & Rheumatism**, v. 40, n. 9, p. 1997, 1997.

HUBER-LANG, M.; SARMA, J. V.; ZETOONE, F. S.; et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. **Nature medicine**, v. 12, n. 6, p. 682–687, 2006.

ILLEI, G. G.; TACKEY, E.; LAPTEVA, L.; LIPSKY, P. E. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: I. General overview of biomarkers and their applicability. **Arthritis and Rheumatism**, v. 50, n. 6, p. 1709–1720, 2004.

JAKAB, L.; LAKI, J.; SALLAI, K.; et al. Association between early onset and organ manifestations of systemic lupus erythematosus (SLE) and a down-regulating promoter polymorphism in the MBL2 gene. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 125, n. 3, p. 230–6, 2007.

KAMAL OKASHA, A. S.; NOOR-ELDEEN, N. M.; , AZZA M. HASSAN, H. E.-; SAADANY. Mannose Binding Lectin Serum Level and Gene Polymorphism in Patients with SLE and its Relation to the Development of Lupus Nephritis. **Int J Nephrol Urol**, v. 2, n. 3, p. 401–413, 2010.

KELLER, T. T.; LEUVEN, S. I. VAN; MEUWESE, M. C.; et al. Serum levels of mannose-binding lectin and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, p. 2345–2350, 2006.

KELLEY, J. M.; EDBERG, J. C.; KIMBERLY, R. P. Pathways: Strategies for susceptibility genes in SLE. **Autoimmunity reviews**, v. 9, n. 7, p. 473–6, 2010. Elsevier B.V.

KIM, J.; IM, C. H.; KANG, E. H.; et al. Mannose-binding lectin gene-2 polymorphisms and serum mannose-binding lectin levels in Behcet's disease. **Clin Exp Rheumatol**, v. 27, n. 2 Suppl 53, p. S13–7, 2009.

KIVITY, S.; AGMON-LEVIN, N.; ZANDMAN-GODDARD, G.; CHAPMAN, J.; SHOENFELD, Y. Neuropsychiatric lupus: a mosaic of clinical presentations. **BMC Medicine**, v. 13, p. 43, 2015.

KJAER, T. R.; THIEL, S.; ANDERSEN, G. R. Toward a structure-based comprehension of the lectin pathway of complement. **Molecular immunology**, v. 56, n. 4, p. 413–22, 2013. Elsevier Ltd.

KRARUP, A.; WALLIS, R.; PRESANIS, J. S.; GÁL, P.; SIM, R. B. Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2. **PLoS ONE**, v. 2, n. 7, p. 1–8, 2007.

KTONA, E.; BARBULLUSHI, M.; BACKA, T.; et al. Evaluation of Thrombocytopenia in Systemic Lupus Erythematosus and Correlation with Different Organs Damages. **Materia Socio Medica**, v. 26, n. April, p. 122, 2014.

LEFFLER, J.; BENGTSSON, A. A; BLOM, A. M. The complement system in systemic lupus erythematosus: an update. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 73, n. 9, p. 1601–6, 2014.

LERANG; GILBOE; GAREN; THELLE; GRAN. High incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in Norway. **Lupus**, v. 21, n. 12, p. 1362–1369, 2012.

LI, Y.; FANG, X.; LI, Q.-Z. Biomarker profiling for lupus nephritis. **Genomics, proteomics & bioinformatics**, v. 11, n. 3, p. 158–65, 2013.

LISNEVSKAIA, L.; MURPHY, G.; ISENBERG, D. Systemic lupus erythematosus. **The Lancet**, v. 384, n. 9957, p. 1878–1888, 2014. Elsevier Ltd.

LIVINGSTON, B.; BONNER, A.; POPE, J. Differences in clinical manifestations between childhood-onset lupus and adult-onset lupus: a meta-analysis. **Lupus**, v. 20, n. 13, p. 1345–1355, 2011.

MADSEN, H. O.; GARRED, P.; THIEL, S.; et al. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 155, n. 6, p. 3013–20, 1995.

MADSEN, H. O.; SATZ, M. L.; HOGH, B.; SVEJGAARD, A.; GARRED, P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 161, n. 6, p. 3169–75, 1998.

MAK, A.; TAY, S. Environmental Factors, Toxicants and Systemic Lupus Erythematosus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 16043–16056, 2014.

MARCELINA, E.; SELLA, C.; SATO, I. Avaliação do Índice de Danos Permanentes Através de SLICC / ACR-DI em Pacientes com Mais de Cinco Anos de Diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistêmico (*) Cumulative Organ Damage Evaluation Using SLICC / ACR-DI in Patients with More Than Five Years of Syste. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 44, p. 115–122, 2004.

MEDEIROS, C.; BEZERRA, M. C.; HOLANDA, F. N.; BRAGA, F.; FEIJA, J. Clinical and immunological aspects and outcome of a Brazilian cohort of 414 patients with systemic lupus erythematosus (SLE): comparison between childhood-onset , adult-onset , and late-onset SLE. **Lupus**, p. 1–9, 2015.

MELO, L. F. DE; DA-SILVA, S. L. Análise neuropsicológica de distúrbios cognitivos em pacientes com fibromialgia, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico. **Rev Bras Reumatol**, v. 52, n. 2, p. 181–188, 2012.

MERLE, N. S.; NOE, R.; HALBWACHS-MECARELLI, L.; FREMEAUX-BACCHI, V.; ROUMENINA, L. T. Complement System Part II: Role in Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. May, p. 1–26, 2015.

MIKDASHI, J.; HANDWERGER, B. Predictors of neuropsychiatric damage in systemic lupus erythematosus: Data from the Maryland lupus cohort. **Rheumatology**, v. 43, n. 12, p. 1555–1560, 2004.

MOK, C. C.; LEE, K. W.; HO, C. T.; LAU, C. S.; WONG, R. W. A prospective study of survival and prognostic indicators of systemic lupus erythematosus in a southern Chinese population. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 39, n. 4, p. 399–406, 2000.

MOK, M. Y.; IP, W. K. E.; LAU, C. S.; et al. Mannose-binding lectin and susceptibility to infection in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. **The Journal of rheumatology**, v. 34, n. 6, p. 1270–6, 2007.

MONTICIELO, O. A.; CHIES, J. A. B.; MUCENIC, T.; et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 19, n. 3, p. 280–7, 2010.

MONTICIELO, O. A.; MUCENIC, T.; XAVIER, R. M.; BRENOL, J. C. T.; CHIES, J. A. B. The role of mannose-binding lectin in systemic lupus erythematosus. **Clinical rheumatology**, v. 27, n. 4, p. 413–9, 2008.

NAUTA, A. J.; DAHA, M. R.; KOOTEN, C. VAN; ROOS, A. Recognition and clearance of apoptotic cells: A role for complement and pentraxins. **Trends in Immunology**, v. 24, n. 3, p. 148–154, 2003.

NAVARRA, S. V.; LEYNES, M. S. N. Infections in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 19, n. 12, p. 1419–24, 2010.

NISIHARA, R. M.; MAGRINI, F.; MOCELIN, V.; MESSIAS-REASON, I. J. Deposition of the lectin pathway of complement in renal biopsies of lupus nephritis patients. **Human immunology**, v. 74, n. 8, p. 907–10, 2013.

PANDA, A. K.; PARIDA, J. R.; TRIPATHY, R.; et al. Mannose binding lectin: a biomarker of systemic lupus erythematosus disease activity. **Arthritis research & therapy**, v. 14, n. 5, p. R218, 2012. BioMed Central Ltd.

PANDA, A. K.; PARIDA, J. R.; TRIPATHY, R.; et al. Low producer MBL genotypes are associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Odisha, India. **Human immunology**, v. 74, n. 1, p. 114–9, 2013.

PETERSEN, S. .; THIEL, S.; JENSEN, L.; STEFFENSEN, R.; JENSENIUS, J. . An assay for the mannan-binding lectin pathway of complement activation. **Journal of Immunological Methods**, v. 257, n. 1-2, p. 107–116, 2001.

PETRI, M.; KIM, M. Y.; KALUNIAN, K. C.; et al. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. **The New England journal of medicine**, v. 353, p. 2550–2558, 2005.

PETRI, M.; ORBAI, A.-M.; ALARCÓN, G. S.; et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. **Arthritis and rheumatism**, v. 64, n. 8, p. 2677–86, 2012.

PIAO, W.; LIU, C.-C.; KAO, A. H.; et al. Mannose-binding lectin is a disease-modifying factor in North American patients with systemic lupus erythematosus. **The Journal of rheumatology**, v. 34, n. 7, p. 1506–13, 2007.

PICCELI, V. F. Estudo da via alternativa do sistema complemento e de doenças autoimunes associadas em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. **Programa**

de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, p. 171, 2013.

PICCELI, V. F.; SKARE, T. L.; NISIHARA, R.; et al. Spectrum of autoantibodies for gastrointestinal autoimmune diseases in systemic lupus erythematosus patients. **Lupus**, v. 22, n. 11, p. 1150–5, 2013.

PICCELI, V. F.; SKARE, T. L.; NISIHARA, R. M.; et al. BF*F allotype of the alternative pathway of complement: A marker of protection against the development of antiphospholipid antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, 2015.

PIETERSE, E.; VLAG, J. VAN DER. Breaking immunological tolerance in systemic lupus erythematosus. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. April, p. 1–8, 2014.

PONS-ESTEL, G. J.; ALARCÓN, G. S.; SCOFIELD, L.; REINLIB, L.; COOPER, G. S. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. **Seminars in arthritis and rheumatism**, v. 39, n. 4, p. 257–68, 2010. Elsevier Inc.

PONS-ESTEL, G. J.; CATOGGIO, L. J.; CARDIEL, M. H.; et al. Lupus in Latin-American patients: lessons from the GLADEL cohort. **Lupus**, v. 24, n. 6, p. 536–45, 2015.

POTLUKOVA, E.; FREIBERGER, T.; LIMANOVA, Z.; et al. Association between low levels of Mannan-binding lectin and markers of autoimmune thyroid disease in pregnancy. (C. Oudejans, Ed.) **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e81755, 2013. Public Library of Science.

PRADHAN, V.; SURVE, P.; GHOSH, K. Mannose binding lectin (MBL) in autoimmunity and its role in systemic lupus erythematosus (SLE). **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 58, p. 688–90, 2010.

PRESANIS, J. S.; KOJIMA, M.; SIM, R. B. Biochemistry and genetics of mannan-binding lectin (MBL). **Biochemical Society transactions**, v. 31, n. Pt 4, p. 748–52, 2003.

RAHMAN, A.; ISENBERG, D. A. Systemic lupus erythematosus. **The New England journal of medicine**, v. 358, n. 9, p. 929–39, 2008.

REKVIG, O. P. The anti-DNA antibody: origin and impact, dogmas and controversies. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 11, n. 9, p. 530–540, 2015. Nature Publishing Group.

RICKLIN, D.; HAJISHENGALLIS, G.; YANG, K.; LAMBRIS, J. D. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. **Nature immunology**, v. 11, n. 9, p. 785–97, 2010.

ROMAN, M. J.; SALMON, J. E.; SOBEL, R.; et al. Prevalence and relation to risk factors of carotid atherosclerosis and left ventricular hypertrophy in systemic lupus

erythematosus and antiphospholipid antibody syndrome. **The American journal of cardiology**, v. 87, n. 5, p. 663–6, A11, 2001.

RUIZ-IRASTORZA, G.; OLIVARES, N.; RUIZ-ARRUZA, I.; et al. Predictors of major infections in systemic lupus erythematosus. **Arthritis research & therapy**, v. 11, n. 4, p. R109, 2009.

SAEVARSDOTTIR, ET AL. Mannan binding lectin as an adjunct to risk assessment for myocardial infarction in individuals with enhanced risk. **Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 1, p. 117–125, 2005.

SANDRIN-GARCIA, P.; BRANDÃO, L. A. C.; COELHO, A. V. C.; et al. Mannose binding lectin gene (MBL2) functional polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus in southern Brazilians. **Human immunology**, v. 72, n. 6, p. 516–21, 2011.

SARMA, J. V.; WARD, P. A. The complement system. **Cell and tissue research**, v. 343, n. 1, p. 227–35, 2011.

SBR - SOCIEDADE BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA, 2011. Disponível em < <http://www.reumatologia.com.br> > Acesso em : março.2015

SCHAFRANSKI, M. D.; PEREIRA FERRARI, L.; SCHERNER, D.; et al. High-producing MBL2 genotypes increase the risk of acute and chronic carditis in patients with history of rheumatic fever. **Molecular Immunology**, v. 45, p. 3827–3831, 2008.

SCIASCIA, S.; BERTOLACCINI, M. L.; ROCCATELLO, D.; KHAMASHTA, M. A.; SANNA, G. Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus: a systematic review. **Journal of Neurology**, v. 261, p. 1706–1714, 2014.

SCIASCIA, S.; CUADRADO, M. J.; KARIM, M. Y. Management of infection in systemic lupus erythematosus. **Best practice & research. Clinical rheumatology**, v. 27, n. 3, p. 377–89, 2013.

SEELLEN, M. A.; TROUW, L. A.; HOORN, J. W. A. VAN DER; et al. Autoantibodies against mannose-binding lectin in systemic lupus erythematosus. **Clinical and experimental immunology**, v. 134, n. 2, p. 335–43, 2003.

SEKINE, H.; RUIZ, P.; GILKESON, G. S.; TOMLINSON, S. The dual role of complement in the progression of renal disease in NZB/W F(1) mice and alternative pathway inhibition. **Molecular immunology**, v. 49, n. 1-2, p. 317–23, 2011.

SHERER, Y.; GORSTEIN, A.; FRITZLER, M. J.; SHOENFELD, Y. Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: More than 100 different antibodies found in SLE patients. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 34, n. 2, p. 501–537, 2004. Elsevier.

- SILVA, C.; CANHÃO, H.; BARCELOS, A.; et al. Protocolo de Avaliação e Monitorização do Lúpus Eritematoso Sistémico (PAMLES). **Acta reumatol. port.**, v. 33, p. 210–218, 2008.
- SILVA, H. D. A. DA; SILVA, A. P. DA; SILVA, H. A. DA; et al. Interferon gamma and Interleukin 10 polymorphisms in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. **Molecular biology reports**, v. 41, n. 4, p. 2493–500, 2014.
- SKARE, T. L.; NISHIHARA, R.; RAMOS, G. P.; UTIYAMA, S. R. R.; MESSIAS-REASON, I. Pentraxin-3 levels in systemic lupus erythematosus: Association with cumulative damage but not with disease activity. **Joint Bone Spine**, p. 2014–2015, 2015. Elsevier Masson SAS.
- SONG, F.-Y.; WU, M.-H.; ZHU, L.; et al. Elevated Serum Mannose-Binding Lectin Levels Are Associated with Poor Outcome After Acute Ischemic Stroke in Patients with Type 2 Diabetes. **Molecular Neurobiology**, , n. 27, 2014.
- SOUZA, D. C. C.; SANTO, A. H.; SATO, E. I. Mortality profile related to systemic lupus erythematosus: a multiple cause-of-death analysis. **The Journal of rheumatology**, v. 39, n. 3, p. 496–503, 2012.
- STOLL, T.; SEIFERT, B.; ISENBERG, D. A. SLICC/ACR Damage Index is valid, and renal and pulmonary organ scores are predictors of severe outcome in patients with systemic lupus erythematosus. **British journal of rheumatology**, v. 35, n. 3, p. 248–54, 1996.
- SUTTON, E. J.; DAVIDSON, J. E.; BRUCE, I. N. The systemic lupus international collaborating clinics (SLICC) damage index: a systematic literature review. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 43, n. 3, p. 352–361, 2013. Elsevier.
- TAKAHASHI, R.; TSUTSUMI, A.; OHTANI, K.; et al. Anti-mannose binding lectin antibodies in sera of Japanese patients with systemic lupus erythematosus. **Clinical and experimental immunology**, v. 136, n. 3, p. 585–90, 2004.
- TAKAHASHI, R.; TSUTSUMI, A.; OHTANI, K.; et al. Association of mannose binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 64, n. 2, p. 311–4, 2005.
- TANHA, N.; TROELSEN, L.; FROM HERMANSEN, M.-L.; et al. MBL2 gene variants coding for mannose-binding lectin deficiency are associated with increased risk of nephritis in Danish patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, 2014.
- THEOFILOPOULOS, A. N.; GONZALEZ-QUINTIAL, R.; LAWSON, B. R.; et al. Sensors of the innate immune system: their link to rheumatic diseases. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 6, n. 3, p. 146–56, 2010. Nature Publishing Group.
- TOUBI, E.; SHOENFELD, Y. Clinical and biological aspects of anti-P-ribosomal protein autoantibodies. **Autoimmunity Reviews**, v. 6, p. 119–125, 2007.

TRUEDESSON, L.; BENGTSSON, A. A.; STURFELT, G. Complement deficiencies and systemic lupus erythematosus. **Autoimmunity**, v. 40, n. 8, p. 560–6, 2007. Informa UK Ltd UK.

TSAI, Y. C.; YAO, T. C.; KUO, M. L.; CHENG, T. T.; HUANG, J. L. Lack of association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with development and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in Chinese children. **Lupus**, v. 18, n. 4, p. 372–6, 2009.

TSAI, Y.-C.; YEH, K.-W.; YAO, T.-C.; et al. Mannose-binding lectin expression genotype in pediatric-onset systemic lupus erythematosus: associations with susceptibility to renal disease and protection against infections. **The Journal of rheumatology**, v. 38, n. 7, p. 1429–35, 2011.

UGARTE-GIL, M. F.; ACEVEDO-VASQUEZ, E.; ALARCON, G. S.; et al. The number of flares patients experience impacts on damage accrual in systemic lupus erythematosus: data from a multiethnic Latin American cohort. **Annals of the Rheumatic Diseases**, p. 1019–1023, 2014.

UNTERMAN, A.; NOLTE, J. E. S.; BOAZ, M.; et al. Neuropsychiatric Syndromes in Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-Analysis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 41, n. 1, p. 1–11, 2011. Elsevier Inc.

VALDIMARSSON, H. Infusion of plasma-derived mannan-binding lectin (MBL) into MBL-deficient humans. **Biochemical Society transactions**, v. 31, n. Pt 4, p. 768–9, 2003.

WAHREN-HERLENIUS, M.; DÖRNER, T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. **The Lancet**, v. 382, p. 819–831, 2013.

WALLIM, L. R.; NISHIHARA, R.; SKARE, T.; MOCELIN, V.; MESSIAS-REASON, I. J. Mannose binding lectin deposition in skin of lupus erythematosus patients: A case series. **Human immunology**, v. 75, n. 7, p. 629–32, 2014. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics.

WANG, Z.-Y.; SUN, Z.-R.; ZHANG, L.-M. The Relationship Between Serum Mannose-Binding Lectin Levels and Acute Ischemic Stroke Risk. **Neurochemical Research**, v. 39, n. 411, p. 248–253, 2014.

XU, W. D.; PENG, H.; ZHOU, M.; et al. Association of RANTES and MBL gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. **Molecular Biology Reports**, v. 40, p. 941–948, 2013.

YANIV, G.; TWIG, G.; SHOR, D. B.-A.; et al. A volcanic explosion of autoantibodies in systemic lupus erythematosus: A diversity of 180 different antibodies found in SLE patients. **Autoimmunity Reviews**, v. 14, n. 1, p. 75–79, 2015. Elsevier B.V.

YOSHIO, T.; OKAMOTO, H.; HIROHATA, S.; MINOTA, S. IgG anti-NR2 glutamate receptor autoantibodies from patients with systemic lupus erythematosus activate endothelial cells. **Arthritis and Rheumatism**, v. 65, n. 2, p. 457–463, 2013.

YTTING, H.; CHRISTENSEN, I. J.; THIEL, S.; et al. Biological variation in circulating levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 and the influence of age, gender and physical exercise. **Scandinavian journal of immunology**, v. 66, n. 4, p. 458–64, 2007.

ZARDI, E. M.; TACCONE, A.; MARIGLIANO, B.; MARGIOTTA, D. P. E.; AFELTRA, A. Autoimmunity Reviews Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus : Tools for the diagnosis. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 8, p. 831–839, 2014. Elsevier B.V.

ZIAKAS, P. D.; PAPADAKI, H. A; PSYLLAKI, M.; VOULGARELIS, M. Anti-thrombopoietin antibodies suppress megakaryocytic colony formation in vitro in patients with systemic lupus erythaematosus. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 67, n. 11, p. 1643–1644, 2008.

ZOMA, A. Musculoskeletal involvement in systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v. 13, n. 11, p. 851–853, 2004.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 - DADOS DEMOGRAFICOS, CONCENTRAÇÃO DE MBL, ESCORE SLEDAI E SLICC/ ACR DI DOS PACIENTES COM LES	92
APÊNDICE 2 - DADOS SOROLÓGICOS DOS PACIENTES COM LES	97
APÊNDICE 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES.....	101
APÊNDICE 4 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES.....	106
APÊNDICE 5 - DADOS DEMOGRÁFICOS E CONCENTRAÇÕES DE MBL DO GRUPO CONTROLE	111

CODIFICAÇÕES

Para “GÊNERO”: 1 = feminino; 2 = masculino

Para “ETNIA”: 1 = afrodescendente; 2 = eurodescendente;

ND = não determinado; SI = sem informação;

APÊNDICE 1 - DADOS DEMOGRAFICOS, CONCENTRAÇÃO DE MBL, ESCORE SLEDAI E SLICC/ ACR DI DOS PACIENTES COM LES

Código	Idade	IID (anos)	TD (meses)	Gênero	Etnia	MBL (ng/mL)	SLEDAI	SLICC
611	46	37	111	1	1	950	SI	0
610	47	41	73	1	2	1100	SI	0
609	53	39	171	1	2	4200	4	0
608	55	41	168	1	2	3000	2	0
607	43	34	108	1	SI	100	0	0
606	55	53	24	1	2	2200	0	1
605	38	26	147	1	SI	1000	6	1
604	20	19	14	1	2	2000	8	1
603	19	10	111	1	1	3500	8	1
602	50	38	144	1	1	450	0	1
600	28	24	48	1	SI	3350	2	1
599	41	36	60	1	1	100	2	1
598	49	43	72	1	2	1700	0	0
597	32	23	111	1	1	3500	0	2
596	40	36	51	1	2	100	2	0
595	44	33	135	1	2	600	4	1
594	18	16	27	1	2	2800	14	1
593	64	52	147	1	2	2150	0	ND
592	29	18	127	1	2	3800	6	0

Código	Idade	IID (anos)	TD (meses)	Gênero	Etnia	MBL (ng/mL)	SLEDAI	SLICC
591	54	46	99	1	2	1850	0	0
590	50	39	132	1	2	100	SI	1
589	57	55	24	1	SI	100	0	0
588	59	51	96	1	1	175	0	4
587	57	35	264	1	2	525	0	4
586	36	29	84	1	2	1600	2	0
585	27	25	24	1	2	3200	2	ND
584	51	38	156	1	2	1075	0	2
583	54	43	132	1	1	125	0	1
582	25	19	72	1	2	2150	2	3
581	36	25	132	1	2	175	2	0
580	22	17	60	1	1	3650	SI	3
579	52	41	135	1	1	3100	0	1
578	48	43	63	1	2	1700	6	ND
577	17	12	63	1	2	1700	15	0
576	48	38	123	1	1	375	0	ND
575	34	12	267	1	2	3200	0	1
574	47	43	51	1	1	900	0	0
573	46	39	87	1	2	3350	1	0
572	21	10	135	1	2	3650	14	0
571	47	42	56	1	2	3800	4	ND
570	53	37	195	1	2	100	0	1
569	39	31	99	1	2	300	14	0
568	38	30	96	1	1	125	2	0
567	44	24	240	1	2	450	2	3
566	45	35	120	1	2	100	0	1
565	48	37	132	2	1	950	0	ND
564	29	20	108	2	1	600	0	0
563	57	43	168	1	2	2800	16	0
562	29	22	84	1	2	100	0	ND
561	41	39	24	1	1	2900	4	ND
560	52	40	144	1	2	3200	12	0
559	23	19	48	1	SI	400	14	2
558	19	13	72	1	2	100	2	0
557	44	40	48	1	2	125	2	0
556	36	30	72	1	2	250	0	0
555	38	36	24	1	1	300	2	0
554	20	15	60	1	1	3800	0	0
553	43	29	168	1	2	1250	0	0
552	46	32	171	1	2	3650	0	3
551	35	25	123	1	2	700	2	0
550	30	27	36	1	SI	1950	4	0
549	37	36	15	1	SI	3100	6	0
548	24	22	27	1	2	1500	2	0
547	24	13	134	1	SI	100	8	1

Código	Idade	IID (anos)	TD (meses)	Gênero	Etnia	MBL (ng/mL)	SLEDAI	SLICC
546	44	37	87	1	2	1125	0	1
545	23	17	69	1	1	275	5	0
544	33	22	135	1	SI	100	4	0
542	20	19	15	1	2	100	4	1
541	21	19	27	1	SI	950	0	0
539	28	23	61	1	1	1125	0	0
538	44	27	207	1	1	400	2	3
537	42	34	99	1	2	1700	4	ND
536	26	14	147	1	2	375	8	1
535	49	48	15	1	2	200	2	ND
534	33	12	255	1	1	3325	0	3
533	33	26	87	1	1	2850	2	3
532	44	42	24	1	2	3600	0	1
531	43	33	120	1	1	1075	2	ND
530	45	30	180	1	2	175	0	0
529	47	38	108	1	1	175	0	1
528	50	37	156	1	2	1650	0	1
527	52	41	132	1	SI	1275	0	3
526	28	21	84	1	1	425	0	0
525	40	29	132	1	2	100	12	1
524	43	26	204	1	2	4400	12	1
523	56	34	264	1	2	3900	2	0
522	22	16	72	1	2	4000	4	0
521	30	20	123	1	1	675	6	1
520	46	32	171	1	2	800	0	1
519	49	37	147	1	1	125	0	0
518	24	9	183	2	2	3900	4	3
517	40	38	27	1	2	1900	4	0
516	29	28	9	1	2	100	SI	1
515	19	14	63	1	SI	1100	0	3
514	31	25	75	1	1	100	4	2
513	54	39	183	1	SI	350	0	0
512	44	25	231	1	2	3900	10	1
511	17	12	63	1	2	250	0	0
510	57	45	147	1	2	275	0	2
509	62	22	483	1	2	100	0	1
508	35	30	63	1	2	550	18	1
507	51	42	114	1	2	100	0	1
506	22	12	123	1	2	2900	2	0
505	21	18	36	1	2	675	0	0
504	45	37	96	1	1	1400	0	0
503	56	43	156	1	2	125	SI	0
502	63	50	156	1	2	100	0	1
501	38	37	12	1	1	200	0	0
99	26	16	120	1	2	2300	2	0

Código	Idade	IID (anos)	TD (meses)	Gênero	Etnia	MBL (ng/mL)	SLEDAI	SLICC
97	37	31	74	1	2	100	1	0
96	21	20	12	1	2	775	4	0
95	40	12	336	1	2	1150	2	0
94	46	37	108	1	1	1300	0	0
91	19	14	60	1	1	800	4	0
90	29	24	60	1	SI	100	0	0
89	31	26	60	1	SI	100	0	2
87	43	40	36	1	SI	1150	3	1
86	17	9	94	2	1	3600	7	2
85	29	22	84	2	1	875	0	3
84	36	34	24	2	1	1500	2	3
83	40	38	24	1	1	200	8	1
82	28	20	96	1	1	1100	8	1
81	45	40	60	1	2	525	2	ND
79	57	45	144	1	2	625	0	1
78	36	25	132	1	1	3000	4	0
77	67	62	60	1	2	1100	2	5
76	36	28	96	1	2	3300	SI	1
74	30	23	84	1	1	1925	4	2
73	49	46	36	1	2	2300	2	1
72	55	45	120	1	2	125	0	1
71	22	19	36	1	2	3900	1	3
70	41	36	60	1	2	250	2	0
68	55	34	252	1	1	175	0	ND
66	41	31	120	1	SI	2500	0	5
65	44	42	24	1	1	3000	0	3
64	45	37	96	1	1	100	10	0
62	45	33	146	1	2	4100	8	2
61	22	17	60	1	2	1075	2	1
60	43	36	84	1	2	225	0	2
59	38	35	36	2	1	100	4	1
58	27	22	60	1	1	2350	6	0
57	29	17	144	1	1	4780	2	2
56	37	25	144	1	2	1350	6	1
55	36	25	132	1	SI	3700	0	1
54	40	SI	SI	1	SI	475	0	1
53	48	41	84	1	1	550	6	ND
52	21	16	60	1	2	975	8	1
51	23	18	60	1	2	125	8	1
50	43	33	120	1	1	2700	3	0
49	30	25	60	1	SI	1150	0	0
48	21	16	60	2	2	2350	0	ND
47	46	40	72	1	2	2600	0	2
46	31	24	84	1	1	575	16	1
45	24	17	84	1	2	300	12	4

Código	Idade	IID (anos)	TD (meses)	Gênero	Etnia	MBL (ng/mL)	SLEDAI	SLICC
43	44	38	72	1	2	875	0	2
42	45	40	60	1	2	350	1	1
41	26	24	24	1	1	1050	2	1
40	58	48	120	2	2	2550	0	1
39	45	33	144	1	SI	1650	2	0
38	31	19	148	1	2	100	2	1
37	30	29	12	1	2	275	6	0
36	59	42	206	1	2	4000	4	4
35	46	36	120	1	1	4600	4	1
33	38	32	72	1	1	4150	6	2
32	42	31	132	1	2	3400	3	1
31	44	35	108	1	2	725	0	1
30	46	42	48	1	1	1550	0	0
29	45	39	72	1	2	3400	1	0
28	56	50	72	2	2	2975	1	1
27	30	25	60	1	1	225	0	0
26	28	17	132	2	2	3800	2	ND
25	29	26	36	2	2	100	8	1
24	44	33	132	1	2	1925	0	0
23	58	48	120	1	1	3400	2	0
20	50	44	72	1	SI	625	0	1
19	45	33	148	1	2	1300	2	0
18	51	47	48	1	1	3600	1	1
16	41	36	60	1	SI	100	0	1
15	47	35	148	1	SI	175	2	1
14	21	14	84	2	2	1400	4	0
13	39	37	24	1	2	200	8	ND
12	53	48	60	1	2	2500	2	5
11	45	40	60	1	1	100	3	1
9	38	35	36	1	2	2300	0	0
8	32	20	144	1	1	3900	2	1
7	40	37	36	1	2	100	3	1
6	35	29	72	1	1	1050	5	0
804	20	19	12	2	SI	4600	39	0
34/ 807	34	27	84	1	2	2600	30	0
345/ 806	44	41	36	1	1	550	12	0
479/ 805	24	23	13	1	2	100	24	ND
255/ 801	22	11	134	2	2	1150	16	ND
90/ 809	31	19	144	1	2	675	18	ND
470/ 802	45	44	12	1	2	725	14	ND
467/ 808	58	57	12	1	1	100	SI	5

NOTA: IID = idade de início da doença (anos);

TD = tempo de doença (meses).

APÊNDICE 2 - DADOS SOROLÓGICOS DOS PACIENTES COM LES

Código	FAN	Anti DNA	Ro	La	SM	RNP	aCl IgG	aCl IgM	LAC
611	1	0	1	1	1	0	0	0	
610	1	0	1	0	0	0	1	0	0
609	1	0	1	0	0	SI	0	0	0
608	1	0	1	0	0	0	0	0	0
607	1	0	1	1	SI	0	0	0	0
606	1	0	0	0	0	0	0	0	0
605	1	0	0	0	0	0	0	0	0
604	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
603	1	1	1	0	1	1	0	0	0
602	1	0	0	0	0	0	0	0	0
600	1	0	1	1	1	1	0	0	0
599	1	0	1	0	0	0	0	0	0
598	1	0	1	1	0	0	0	0	0
597	1	0	1	0	0	0	0	0	1
596	1	1	1	0	0	0	0	0	1
595	1	1	0	0	0	SI	0	0	0
594	1	1	0	0	0	0	0	0	0
593	1	0	0	0	1	1	1	1	1
592	1	0	0	0	0	0	0	0	SI
591	1	0	0	0	0	0	0	0	0
590	1	0	0	0	0	0	0	0	0
589	1	0	1	1	0	1	0	0	0
588	1	0	0	0	0	0	0	0	0
587	1	1	0	0	1	0	1	1	0
586	1	0	1	0	0	0	0	0	1
585	1	0	1	1	1	0	0	0	0
584	1	1	0	0	0	0	0	0	0
583	1	1	1	0	0	0	1	1	0
582	1	0	0	0	1	1	0	1	1
581	1	0	0	0	1	1	1	1	0
580	1	0	0	0	0	0	0	0	0
579	1	1	1	0	0	0	0	0	0
578	1	0	0	0	0	0	1	1	0
577	1	1	0	0	0	0	0	0	0
576	1	0	1	0	0	0	0	0	0
575	1	0	0	0	0	0	0	0	0
574	1	0	1	1	0	0	1	0	0
573	1	0	1	1	0	0	0	0	0
572	1	1	0	0	0	0	SI	0	0
571	1	0	0	0	1	1	0	0	0
570	1	0	0	0	0	0	0	0	0
569	1	0	1	1	0	0	0	0	0
568	1	1	0	0	1	1	0	0	0
567	1	0	0	0	0	1	1	1	0
566	1	1	0	0	0	0	0	0	0
565	1	0	0	0	0	0	0	0	SI
564	1	0	0	0	1	1	0	0	0
563	1	0	1	1	0	0	0	0	SI
562	1	0	0	0	0	0	0	0	1
561	1	0	0	0	0	SI	SI	0	0
560	1	0	1	1	0	0	0	0	0
559	1	1	0	0	0	0	0	0	0
558	1	0	0	0	0	0	0	0	0
557	1	0	0	0	0	SI	0	0	0

Código	FAN	Anti DNA	Ro	La	SM	RNP	aCl IgG	aCl IgM	LAC
556	1	0	0	0	0	1	0	0	0
555	1	0	0	0	0	0	0	0	0
554	1	0	0	0	0	0	0	0	0
553	1	0	0	0	0	0	0	0	0
552	1	0	0	0	0	0	0	0	0
551	1	0	1	1	0	0	0	0	0
550	1	1	0	0	0	0	0	0	0
549	1	0	0	0	1	1	0	0	0
548	1	0	1	1	SI	0	0	0	0
547	1	0	0	0	1	1	0	0	0
546	1	1	1	1	0	0	0	0	0
545	1	0	0	0	0	0	0	0	1
544	1	1	1	1	0	0	0	0	SI
542	1	1	0	0	0	0	0	0	0
541	1	1	1	1	SI	SI	0	0	0
539	1	0	1	1	0	0	0	0	0
538	1	1	1	0	0	0	0	0	0
537	1	0	0	0	0	0	0	0	0
536	1	0	0	0	0	SI	1	1	1
535	1	0	1	1	1	1	1	2	0
534	1	1	1	0	SI	0	1	0	0
533	1	0	0	0	1	1	0	0	0
532	1	0	1	1	1	1	0	0	0
531	1	0	0	0	0	0	0	0	0
530	1	0	0	0	0	SI	0	0	SI
529	1	0	1	0	0	0	0	0	0
528	1	0	0	0	0	0	0	0	0
527	1	0	0	0	0	0	0	0	1
526	1	1	0	0	0	0	0	0	0
525	1	0	0	0	0	0	1	1	0
524	1	0	0	0	0	0	0	1	0
523	1	0	1	1	0	0	0	0	0
522	1	1	0	0	0	0	0	1	0
521	1	1	0	0	0	0	0	0	0
520	1	0	0	0	0	0	0	0	0
519	1	1	1	1	0	1	0	0	0
518	1	0	0	0	0	0	0	0	0
517	1	1	SI	SI	1	1	0	0	SI
516	0	0	0	0	0	0	0	0	0
515	1	1	0	0	0	0	1	1	0
514	1	0	0	0	1	1	0	0	0
513	1	0	0	0	0	0	0	0	0
512	1	0	1	0	0	1	1	0	0
511	1	0	0	0	0	0	0	1	1
510	1	0	0	0	1	SI	0	0	1
509	1	0	0	0	0	0	0	0	0
508	1	0	0	0	0	0	0	1	0
507	1	0	1	0	1	0	0	0	0
506	1	0	0	0	0	0	0	0	0
505	1	0	0	0	0	0	1	1	1
504	1	0	0	0	0	0	0	0	0
503	1	0	0	0	0	0	0	0	0
502	1	1	0	0	0	0	0	0	0
501	1	0	0	0	0	1	0	0	0
99	1	0	0	0	0	0	0	0	0
97	1	0	1	1	0	1	0	0	0
96	1	1	0	0	0	0	1	1	0
95	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Código	FAN	Anti DNA	Ro	La	SM	RNP	aCl IgG	aCl IgM	LAC
94	1	0	0	0	0	1	0	0	1
91	1	0	0	0	0	0	0	0	0
90	1	0	0	0	0	0	0	0	0
89	1	1	0	0	1	1	0	0	0
87	1	0	1	1	0	0	1	0	0
86	1	0	0	0	0	1	0	0	SI
85	1	0	0	0	0	1	0	0	0
84	1	1	0	0	1	0	0	0	0
83	1	1	0	0	1	1	0	0	0
82	1	0	1	0	1	1	0	0	0
81	1	1	1	1	0	0	1	0	0
79	1	1	0	0	0	0	0	0	0
78	1	1	1	0	0	1	0	0	0
77	1	0	0	0	0	0	0	0	0
76	1	0	0	0	1	0	0	0	0
74	1	1	0	0	0	0	0	0	0
73	1	1	0	0	0	0	1	1	1
72	1	0	1	1	1	1	0	0	0
71	1	0	1	0	1	1	0	0	1
70	1	1	1	0	1	1	0	0	0
68	1	0	0	0	0	0	0	0	0
66	1	0	0	0	0	0	0	0	0
65	1	0	0	0	0	0	0	0	0
64	1	0	1	0	0	1	0	0	SI
62	1	0	1	1	1	1	0	0	0
61	1	1	0	0	0	0	0	0	0
60	1	0	1	0	0	0	0	0	0
59	1	1	1	1	0	0	0	0	SI
58	1	0	0	0	1	1	0	0	0
57	1	0	0	0	0	0	0	0	0
56	1	0	0	SI	0	0	0	1	1
55	1	0	0	0	0	0	0	0	0
54	1	1	1	1	0	1	0	0	0
53	1	0	0	0	0	0	1	0	0
52	1	0	1	1	1	0	0	0	0
51	1	1	0	1	0	0	0	0	0
50	1	1	1	0	0	0	0	0	0
49	1	0	1	0	0	1	0	0	1
48	1	1	1	1	1	1	1	1	0
47	1	1	1	1	0	0	0	0	0
46	1	0	0	0	0	0	0	0	0
45	1	0	1	0	1	SI	0	0	0
43	1	0	0	0	0	0	0	0	0
42	1	0	0	0	0	0	0	0	0
41	1	1	0	0	1	1	0	0	0
40	1	0	0	0	0	1	0	0	0
39	1	0	0	0	0	0	0	0	0
38	1	1	0	0	0	0	0	0	0
37	1	1	0	0	0	0	0	0	SI
36	1	0	0	0	0	0	0	0	0
35	1	0	0	0	0	0	0	1	0
33	1	0	1	1	1	0	0	0	SI
32	1	1	0	0	0	1	1	1	1
31	1	1	0	0	0	0	0	0	0
30	1	0	0	0	1	1	0	0	0
29	1	0	0	0	0	0	0	0	0
28	1	0	1	1	0	0	0	0	0
27	1	1	0	0	0	0	1	0	0

Código	FAN	Anti DNA	Ro	La	SM	RNP	aCl IgG	aCl IgM	LAC
26	1	1	0	0	0	0	0	0	SI
25	1	0	1	1	0	1	0	0	1
24	1	0	1	0	1	1	0	0	0
23	1	1	0	0	0	0	0	0	0
20	1	1	0	0	1	0	0	0	0
19	1	0	0	0	0	SI	1	0	0
18	1	0	1	0	1	1	0	0	0
16	1	0	0	0	0	0	0	0	0
15	1	0	1	1	0	1	0	0	0
14	1	0	0	0	0	0	0	0	0
13	1	1	0	0	0	0	0	1	0
12	1	1	1	0	0	0	0	0	0
11	1	0	1	0	1	1	0	0	0
9	1	0	1	0	0	0	0	0	0
8	1	0	0	0	0	0	1	0	0
7	1	1	1	1	1	0	0	0	0
6	1	0	0	0	1	1	1	1	1
804	1	1	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
34/ 807	1	0	0	0	0	SI	1	0	1
345/ 806	1	0	0	0	0	0	0	0	0
479/ 805	1	1	0	0	1	0	SI	SI	SI
255/ 801	1	1	0	1	1	1	0	0	0
90/ 809	1	1	1	0	1	1	0	0	0
470/ 802	1	1	1	0	0	1	0	0	0
467/ 808	1	0	0	0	0	SI	0	0	0

NOTA: FAN= fator anti-nuclear

Ro= anticorpo anti-Ro

La= anticorpo anti-La

Sm= anticorpo anti-Sm

RNP= anticorpo anti-ribonucleoproteína

Acl IgG= anticorpo anticardiolipina classe IgG

Acl IgM= anticorpo anticardiolipina classe IgM

LAC= anticoagulante lúpico

APÊNDICE 3 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES

Código	Artrite	Lesão discoide	Fotossensibilidade	Rash malar	Úlcera oral	Alopécia	Fenômeno de Raynaud	Psicose Lúpica
611	0	0	1	1	1	1	1	0
610	ALGIA	0	1	1	1	1	0	0
609	1M	0	1	0	1	1	1	0
608	algia	0	1	0	0	0	0	0
607	1M	0	0	1	1	1	0	0
606	1AD	0	1	1	0	0	0	0
605	algia	0	0	1	0	1	1	0
604	SI	SI	1	0	0	0	SI	0
603	1M	1	1	0	0	0	1	0
602	1AD	0	1	1	1	1	0	0
600	1AD	0	0	0	0	1	1	0
599	0	0	1	0	1	1	0	0
598	0	0	1	1	1	0	0	0
597	1AD	0	0	0	0	1	1	0
596	1M	0	1	0	1	1	1	0
595	ALGIA	0	1	0	1	1	1	0
594	1M	0	SI	0	SI	1	SI	0
593	0	0	1	0	1	0	SI	0
592	1AD	0	1	1	0	1	1	0
591	algia	0	1	1	1	1	1	0
590	1M	0	1	1	0	0	0	0
589	0	0	1	0	0	0	1	0
588	algia	0	1	0	0	1	1	0
587	1AD JACCOUD	1	0	0	0	1	1	0
586	0	0	0	0	0	1	0	0
585	1AD	0	1	1	1	0	1	0
584	1AD	0	1	1	0	1	0	0
583	algia	0	1	0	1	0	1	0
582	1AD	0	0	0	1	1	0	0
581	1AD	0	1	1	1	1	1	0
580	1M	0	0	0	1	0	1	0
579	algia	0	1	0	0	1	1	0
578	ALGIA	0	1	0	0	0	1	0
577	1AD	0	1	1	1	1	0	0
576	1AD	0	1	1	0	0	0	0
575	1M	0	1	1	0	0	0	1
574	1AD/S	0	0	0	0	0	1	0
573	0	0	1	1	0	0	1	0
572	1AD	0	1	0	1	1	SI	0
571	0	0	1	1	0	0	0	0
570	algia	0	1	1	0	0	0	0

Código	Artrite	Lesão discoide	Fotossensibilidade	Rash malar	Úlcera oral	Alopécia	Fenômeno de Raynaud	Psicose Lúpica
569	1M	0	1	1	0	0	0	0
568	0	0	1	1	0	1	1	0
567	1AD	1	1	1	1	1	1	0
566	0	0	1	0	1	1	1	0
565	ALGIAS	1	1	0	0	1	0	0
564	algia	0	1	1	0	1	1	0
563	0	1	1	0	1	1	1	0
562	1AD	0	1	1	1	1	0	0
561	1,AD	0	0	0	0	1	0	0
560	algia	0	1	1	1	1	0	0
559	1AD	0	1	1	0	1	0	0
558	0	0	1	1	0	0	0	0
557	1M	1	1	1	1	1	1	0
556	1AD	0	0	0	0	0	0	0
555	0	0	1	1	0	1	1	0
554	0	0	0	0	0	1	0	1
553	0	0	1	1	1	1	1	0
552	algia	0	0	0	0	0	0	0
551	ALGIAS	0	1	1	1	0	1	0
550	1AD	0	0	0	0	0	0	0
549	1AD	0	1	1	0	1	1	0
548	1AD	1	1	1	0	0	0	0
547	1M	0	1	0	SI	0	1	0
546	algias	SI	1	1	0	0	1	1
545	1AD	0	0	0	0	1	1	0
544	1 (N/D)	0	1	0	0	0	0	0
542	0	1	1	0	1	1	1	1
541	1M	0	1	1	0	0	1	1
539	0	0	0	0	1	1	0	0
538	0	0	1	0	1	0	1	0
537	0	0	1	1	0	1	0	0
536	1M	0	1	1	0	0	0	0
535	0	0	SI	0	1	0	0	0
534	1AD/jaccoud	0	0	0	1	0	0	0
533	1AD	0	0	0	1	0	1	0
532	0	0	1	1	1	0	SI	1
531	1M	0	1	1	1	0	0	0
530	ALGIAS	0	1	0	0	0	0	0
529	1AD	0	1	0	1	1	0	0
528	1	1	1	0	1	0	0	0
527	ALGIA	0	1	0	0	1	0	0
526	1M	0	0	0	1	0	0	0
525	0	0	1	1	1	0	0	0
524	1AD	1	1	1	0	1	1	0

Código	Artrite	Lesão discoide	Fotossensibilidade	Rash malar	Úlcera oral	Alopécia	Fenômeno de Raynaud	Psicose Lúpica
523	1AD	1	1	1	1	0	1	0
522	1M	0	1	0	1	1	0	0
521	1AD	0	1	0	1	1	1	0
520	1M	0	1	0	1	1	1	0
519	1M	0	0	1	0	1	0	0
518	0	0	0	0	0	0	0	0
517	1		SI	0	0	0	SI	XX
516	1AD	0	1	1	0	1	0	0
515	1AD	0	0	0	0	1	0	0
514	1AD	0	1	1	0	1	1	0
513	0	0	1	1	1	0	0	0
512	0	0	1	0	0	1	1	0
511	0	0	0	0	0	0	0	0
510	0	1	0	0	1	1	1	0
509	ALGIA	1	1	1	1	0	1	0
508	1AD	0	1	0	0	1	1	0
507	1AD	0	1	0	0	0	1P	0
506	1AD	0	0	1	1	1	1	0
505	1AD	0	1	0	1	1	0	0
504	1AD	0	1	1	1	1	1	0
503	ALGIA	0	1	0	0	0	1	0
502	1AD	1	0	0	0	0	0	0
501	1AD	0	1	0	1	0	1	0
99	0	0	1	1	1	1	1	0
97	1AD	0	0	0	0	0	1	0
96	1M	0	0	0	1	0	0	1
95	ALGIA	0	1	1	0	0	0	1
94	ALGIA	0	0	0	1	0	1	0
91	0	0	0	0	0	0	0	1
90	0	0	1	0	0	1	0	0
89	0	0	1	0	0	1	1	0
87	0	1	1	0	0	0	1	0
86	1AD	0	0	0	0	0	1	0
85	1M	1	0	0	0	0	1	0
84	0	0	0	0	0	0	0	0
83	1AD	0	1	1	0	0	0	0
82	1AD	1	1	1	0	1	0	0
81	algia	0	0	0	0	1	1	0
79	algia	0	1	1	1	1	1	0
78	1AD	0	1	1	1	1	0	0
77	1AD JACCOUD	0	1	1	0	1	1	0
76	1AD	0	1	0	0	1	1	0
74	1AD Jaccoud	0	0	0	1	0	0	1
73	1AD	0	0	0	1	0	0	1

Código	Artrite	Lesão discoide	Fotossensibilidade	Rash malar	Úlcera oral	Alopécia	Fenômeno de Raynaud	Psicose Lúpica
72	1AD	0	1	1	0	0	1	0
71	0	0	1	1	1	0	0	0
70	1AD	0	0	0	1	SI	0	0
68	1M	0	1	1	0	0	0	0
66	1AD	0	0	0	1	1	0	0
65	0	0	1	0	0	1	1	1
64	0	0	0	0	0	0	0	0
62	1AD	0	1	1	0	1	0	0
61	1M	0	1	1	0	0	0	0
60	1AD JAccoud	0	1	1	0	1	1	0
59	0	0	SI	0	SI	SI	1	0
58	1M	1	1	0	1	1	0	0
57	0	0	1	1	1	1	1	0
56	1AD	0	1	1	1	0	1	0
55	0	0	0	0	0	0	0	0
54	1M	1	1	0	1	0	0	0
53	algia	0	0	0	1	1	0	0
52	1M	0	1	1	1	1	0	0
51	1AD	0	1	1	1	1	0	0
50	algia	0	1	0	0	1	1	0
49	0	0	1	1	0	0	1	1
48	0	1	1	1	1	0	1	1
47	1AD JAccoud	0	0	0	0	0	1	0
46	0	0	1	1	0	0	0	1
45	1AD	0	1	1	1	1	1	0
43	algia	1	1	1	0	0	1	0
42	1AD	0	1	1	1	0	SI	0
41	1M	1	1	1	1	1	1	0
40	1AD	1	1	0	0	0	1	0
39	1M	0	1	1	0	1	1	0
38	ALGIA	0	1	1	1	1	0	0
37	0	0	1	1	0	0	0	0
36	1M	0	1	SI	1	1	1	0
35	ALGIA	0	0	0	1	1	0	0
33	1AD	0	1	1	0	1	0	0
32	1AD JAC COUD	0	1	0	1	1	0	0
31	1AD	0	1	1	1	1	0	0
30	ALGIA	0	1	1	1	1	1	0
29	0	0	1	1	1	1	1	0
28	algia	0	1	0	0	0	1	0
27	1AD	0	0	0	0	1	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1M	0	0	0	0	0	0	0
24	1AD	0	1	1	0	1	1	0

Código	Artrite	Lesão discoide	Fotossensibilidade	Rash malar	Úlcera oral	Alopécia	Fenômeno de Raynaud	Psicose Lúpica
23	1AD	0	0	0	0	0	0	0
20	1AD	0	1	SI	0	SI	1	0
19	ALGIA	0	1	1	0	1	1	0
18	1	0	1	1	0	0	1	0
16	1M	0	1	1	1	1	1	0
15	1AD	0	1	1	0	1	0	0
14	1AD	0	1	1	1	0	0	0
13	1AD	0	1	0	0	0	1	0
12	1AD	0	1	0	0	0	1	0
11	0	0	0	0	1	1	1	0
9	1AD	0	0	0	1	1	1	0
8	1AD	0	1	1	1	1	1	0
7	1M	0	0	0	1	1	0	0
6	1AD	1	1	1	0	0	0	0
804	1	0	1	1	0	0	0	0
34/ 807	1AS	0	1	1	1	0	0	0
345/ 806	0	0	0	0	1	0	0	1
479/ 805	0	0	1	1	0	0	0	0
255/ 801	1AD	0	1	1	0	0	1	1
90/ 809	1	0	1	1	1	1	1	0
470/ 802	0	0	1	1	0	0	1	1
467/ 808	rhupus	0	1	0	0	1	0	0

APÊNDICE 4 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DOS PACIENTES COM LES

Código	Convulsão	Serosite	Glomerulonefrite	Leucopenia	Plaquetopenia	Linfocitopenia	Anemia hemolítica
611	1	0	0	0	0	0	0
610	0	0	0	0	1	0	0
609	0	0	0	0	0	0	0
608	0	0	4	0	0	0	0
607	0	0	0	0	0	0	0
606	0	0	0	0	1	0	0
605	0	1	4	0	0	0	0
604	SI	0	SI	0	0	SI	SI
603	0	0	4	0	0	0	0
602	0	0	5	0	0	1	0
600	0	0	0	0	0	0	0
599	0	0	N	0	0	SI	0
598	1	0	0	0	0	0	0
597	0	0	0	1	1	0	0
596	0	1	3	0	0	1	0
595	0	0	0	1	0	0	0
594	0	1	5	0	0	0	0
593	0	0	0	0	0	0	1
592	0	0	5	0	0	0	0
591	0	0	0	0	0	0	1
590	0	0	0	0	0	1	0
589	0	0	N	0	0	1	0
588	1	0	0	0	1	0	0
587	0	0	0	0	0	0	0
586	0	0	4	0	0	0	0
585	0	0	N	1	0	0	0
584	0	0	0	0	0	0	0
583	0	0	0	1	0	0	0
582	1	0	6-dialise	1	1	1	0
581	0	1	4	0	0	0	0
580	0	0	4	0	1	0	0
579	0	0	5	1	1	0	0
578	0	1	0	0	0	0	0
577	0	0	4	1	0	0	0
576	0	0	N	0	0	SI	1
575	SI	0	N	0	0	SI	0
574	0	0	0	0	0	0	0
573	1	0	0	1	0	0	0
572	0	0	0	1	0	0	0
571	0	0	3	0	1	0	0
570	1	1	0	0	0	0	0
569	0	0	5	0	0	0	0

Código	Convulsão	Serosite	Glomerulonefrite	Leucopenia	Plaquetopenia	Linfocitopenia	Anemia hemolítica
568	0	0	0	0	1	0	1
567	0	0	4	0	0	0	0
566	1	0	0	0	1	0	0
565	0	0	0	0	0	0	0
564	0	0	0	0	0	0	0
563	0	0	0	0	0	0	0
562	0	0	4	0	0	0	0
561	1	0	3	1	0	0	0
560	0	0	0	0	0	0	0
559	0	1	5	0	0	0	0
558	0	0	0	1	1	0	0
557	0	0	0	0	0	0	0
556	0	0	0	0	0	0	1
555	0	0	0	1	0	1	0
554	1	0	2	1	0	0	1
553	0	0	5	1	0	0	0
552	0	0	6- transplante	0	1	0	0
551	0	0	0	0	1	0	0
550	0	0	3	0	0	SI	0
549	0	0	0	0	0	0	0
548	0	0	0	0	0	0	0
547	0	0	0	0	0	0	0
546	0	0	3	1	0	0	0
545	0	0	N	0	0	0	0
544	1	0	0	0	0	0	0
542	0	1	0	0	0	1	0
541	0	0	0	1	1	0	0
539	0	1	4	0	0	1	0
538	0	0	0	0	0	0	0
537	0	0	0	0	0	0	0
536	0	0	4	1	1	SI	1
535	0	0	0	1	0	0	0
534	0	0	0	0	0	1	0
533	0	0	0	1	0	0	0
532	1	0	0	1	0	0	0
531	0	1	4	0	0	SI	0
530	0	0	0	0	0	0	0
529	0	0	N	1	0	0	0
528	1	0	0	1	0	0	0
527	0	0	6- HEMODIALISE	0	0	0	0
526	0	0	3	0	0	0	0
525	0	0	0	0	0	0	0
524	0	0	0	0	1	0	0
523	0	0	0	1	0	0	0
522	1	0	0	0	0	SI	0

Código	Convulsão	Serosite	Glomerulonefrite	Leucopenia	Plaquetopenia	Linfocitopenia	Anemia hemolítica
521	0	1	4	0	0	0	0
520	0	0	3	0	0	0	0
519	0	0	3	0	0	1	0
518	0	0	6,dialise	0	0	0	0
517	SI	0	N	0	0	SI	0
516	0	0	5	0	0	0	0
515	0	1	6, transplante	0	0	0	0
514	0	1	0	0	0	1	0
513	0	0	0	1	0	0	0
512	0	0	5	0	1	1	0
511	0	0	0	0	1	0	0
510	0	0	0	0	0	0	0
509	0	0	0	1	0	1	0
508	0	0	2	0	0	0	0
507	0	1	0	0	0	0	0
506	0	0	4	0	1	0	0
505	0	0	0	0	0	0	1
504	0	1	0	0	0	0	0
503	0	1	0	0	0	0	0
502	0	0	0	1	1	0	1
501	0	0	0	0	0	0	0
99	1	0	4	1	1	0	0
97	0	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	1	1	1	0
95	1	0	0	0	0	0	0
94	0	0	5	0	0	0	0
91	0	0	2	2	1	0	1
90	0	0	4	0	0	0	0
89	0	0	6	0	SI	0	0
87	0	0	0	1	1	1	0
86	0	0	5	SI	SI	SI	SI
85	1	0	4	0	0	0	0
84	0	1	4	0	0	0	0
83	0	0	0	0	0	0	0
82	0	0	5	1	0	0	0
81	0	0	3	1	1	0	0
79	0	0	0	1	0	0	0
78	0	0	0	0	0	0	0
77	0	1	0	0	0	0	0
76	0	0	0	1	1	1	1
74	1	1	3	1	0	0	0
73	0	1	0	0	0	0	0
72	0	0	2b	0	0	0	0
71	1	1	3	0	1	0	0
70	0	1	5	0	0	0	0

Código	Convulsão	Serosite	Glomerulonefrite	Leucopenia	Plaquetopenia	Linfocitopenia	Anemia hemolítica
68	0	0	6TX	0	0	1	0
66	0	0	3	0	0	0	0
65	0	1	0	0	0	0	0
64	0	0	4	0	1	0	0
62	0	0	4	1	0	0	0
61	0	1	0	1	1	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0
59	0	1	3	1	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	0
57	1	1	4	0	1	0	0
56	0	0	0	0	0	0	0
55	0	0	2	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	SI	0
53	0	0	4	1	0	0	0
52	0	1	0	1	0	1	0
51	0	1	0	0	1	0	0
50	0	0	0	0	1	1	0
49	0	1	0	0	0	0	0
48	1	0	4	1	1	1	0
47	0	1	5	0	0	0	0
46	0	0	4	0	0	0	0
45	0	0	4	0	1	0	0
43	0	1	5	1	0	1	9
42	0	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	1	0	0	0
40	0	0	4	0	1	0	0
39	0	0	0	0	0	1	0
38	0	0	4	1	1	1	0
37	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	6	0	0	SI	0
35	0	1	2	0	1	1	0
33	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	1	0	0	0
31	0	0	3	0	0	0	0
30	0	0	4	0	0	1	0
29	0	0	0	1	1	0	0
28	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	4	0	0	0	0
25	0	0	4	0	0	1	0
24	0	1	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	1	SI	0	0
19	0	0	2	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0

Código	Convulsão	Serosite	Glomerulonefrite	Leucopenia	Plaquetopenia	Linfocitopenia	Anemia hemolítica
16	0	0	5	0	0	0	0
15	0	0	0	1	1	1	0
14	0	0	4	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
12	0	1	0	1	1	SI	0
11	0	0	0	1	1	0	0
9	0	0	5	0	0	0	0
8	1	0	0	1	1	0	1
7	0	1	4	0	0	0	0
6	0	0	0	1	0	1	0
804	1	1	5	0	0	0	0
34/ 807	0	0	0	0	1	0	0
345/ 806	0	0	3	0	0	0	0
479/ 805	1	1	5	0	0	0	0
255/ 801	0	1	5	1	0	1	0
90/ 809	0	1	3	0	0	0	1
470/ 802	0	0	1	SI	SI	SI	0
467/ 808	0	1	6	0	0	0	0

APÊNDICE 5 - DADOS DEMOGRÁFICOS E CONCENTRAÇÕES DE MBL DO GRUPO CONTROLE

CÓDIGO	IDADE	GENERO	ETNIA	MBL (ng/ml)
BS235	32	2	1	1300
BS207	35	1	1	275
BS205	42	1	1	200
BS184	29	1	1	925
BS155	33	1	1	100
BS148	38	2	1	1300
BS140	33	1	1	400
BS138	18	2	1	300
BS136	43	2	1	1175
BS119	37	2	1	150
BS115	27	1	1	550
BS109	28	2	1	200
BS108	27	2	1	4400
BS097	41	2	1	2425
BS089	18	1	1	2300
BS088	36	1	1	925
BS079	38	2	1	1650
BS077	28	2	1	975
BS072	44	2	1	100
BS070	37	2	1	375
BS069	42	2	1	2975
BS054	53	2	1	3000
BS047	34	2	1	1300
BS041	36	2	1	3000
BS026	28	1	1	250
BS024	34	2	1	625
BS015	35	1	1	400
BS012	27	1	1	625
BS003	36	1	1	3850
7J	45	1	2	100
63J	41	1	2	1720
60J	52	1	2	1800
5P	40	1	2	1459
5J	29	2	2	3500
59J	59	1	2	2500
57J	28	1	2	1332

55J	51	1	2	400
54J	52	1	2	3200
52J	37	1	2	2500
4P	38	1	2	1149
4J	30	1	2	100
47J	56	1	1	1500
40J	51	1	2	2600
3J	34	1	2	3500
39J	50	1	2	400
33J	49	1	2	1100
2J	42	1	2	280
28J	63	1	2	600
25J	33	1	2	1394
22J	41	1	2	4200
17J	45	1	2	3500
016V	62	1	2	100
014V	61	1	2	899
011V	58	1	2	100
008V	56	1	2	250
006V	53	1	2	3726
004V	54	1	2	280
002V	52	1	2	140
217	45	1	2	3045
216	42	1	2	574
215	41	1	2	3642
214	61	1	2	1010
213	41	1	2	100
212	63	1	2	984
211	49	1	2	931
210	50	1	2	1114
209	55	1	2	100
208	50	1	2	909
207	51	1	2	1926
206	60	1	2	1236
205	40	1	2	1049
204	49	1	2	2544
203	40	1	2	1833
202	52	1	2	3331
201	51	1	2	929
200	59	1	2	1747
130	57	1	2	100

129	51	1	2	100
128	55	1	2	100
125	50	1	2	100
124	50	1	2	100
123	51	1	2	100
121	60	1	2	100
116	30	1	2	3855
106	34	1	2	3427
92	31	1	2	2737
74	56	1	2	2059
65	59	1	2	1900
64	38	1	2	100
63	19	1	SI	4089
62	23	1	SI	726
61	21	1	SI	3398
60	23	1	SI	473
59	23	1	SI	3544
58	22	1	SI	3288
57	23	1	SI	3092
56	24	1	2	2030
55	23	1	SI	100
54	24	1	2	4321
53	31	1	2	1200
52	24	1	2	1207
51	40	1	2	1800
50	49	1	2	2800
49	28	1	2	370
48	39	1	2	1400
47	32	1	2	1099
46	40	1	2	650
45	56	1	1	450
44	60	1	2	370
43	26	1	2	1700
42	28	1	2	1295
41	36	1	2	2246
40	29	1	2	3214
39	51	1	2	943
38	48	1	1	2100
37	26	1	2	2787
35	37	1	2	2404
34	50	1	2	980

33	33	1	SI	901
32	34	1	2	2966
31	42	1	2	2112
29	57	1	1	2050
28	24	1	SI	971
27	56	1	2	1994
26	61	1	2	640
25	40	1	2	695
24	26	1	2	939
23	26	1	2	3587
22	22	1	SI	2255
21	25	1	2	3500
20	27	1	2	745
19	28	1	2	2155
17	27	1	2	311
16	29	2	2	4000
15	22	1	SI	2682
13	22	1	SI	1070
11	33	1	2	395
9	39	1	2	1883
8	31	1	2	3409
7	30	1	2	2388
6	23	1	2	2475
5	26	1	2	100
4	19	1	2	500
3	22	1	SI	2238
2	26	1	2	100

ANEXO 1

CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

(HOCHBERG, 1997 *apud* GEORGE BERTSIAS, RICARD CERVERA, 2012)

1. **Rash malar:**
Eritema fixo, plano ou elevado, nas eminências malares, tendendo a poupar a região nasolabial
2. **Lesão discóide:**
Placas eritematosas elevadas, ocorrendo cicatrização atrófica nas lesões antigas
3. **Fotossensibilidade:**
Rash cutâneo resultante de reação incomum ao sol, por história do paciente ou observação do médico
4. **Úlcera oral:**
Ulceração oral ou nasofaríngea, geralmente não dolorosa, observada pelo médico
5. **Artrite:**
Artrite não-erosiva, envolvendo 2 ou mais articulações periféricas caracterizada por dor à palpação, edema ou derrame
6. **Serosite:**
 - (a) pleurite – história convincente de dor pleurítica ou atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural ou
 - (b) pericardite – documentada por ECG ou atrito ou evidência de derrame pericárdico
7. **Alteração renal:**
 - (a) proteinúria persistente > 0,5 g por dia ou > 3 + se não quantificada ou
 - (b) cilindros celulares: podem ser hematológico, granular, tubular ou misto
8. **Alteração neurológica:**
 - (a) convulsão – na ausência de drogas implicadas ou alterações metabólicas conhecidas (ex. uremia, cetoacidose, distúrbios hidroeletrólíticos) ou
 - (b) psicose - na ausência de drogas implicadas ou alterações metabólicas conhecidas (ex. uremia, cetoacidose, distúrbios hidroeletrólíticos).
9. **Alteração hematológica:**
 - (a) anemia hemolítica – com reticulocitose ou
 - (b) leucopenia - < 4000/mm³ total em 2 ou mais ocasiões ou
 - (c) linfopenia - < 1500/mm³ em 2 ou mais ocasiões ou
 - (d) trombocitopenia - < 100 000/mm³ na ausência de drogas causadoras
10. **Alteração imunológica:**
 - (a) anti-DNA – anticorpo ao DNA nativo em títulos anormais ou
 - (b) Anti-Sm – presença do anticorpo ao antígeno nuclear Sm ou

(c) achados positivos de anticorpos antifosfolipideos baseados em: (1) concentração sérica anormal de anticardiolipina IgG ou IgM, (2) teste positivo para anticoagulante lúpico usando teste-padrão ou (3) VDRL falso positivo por pelo menos 6 meses e confirmado por FTA-Abs

11. **Anticorpo antinuclear (FAN)** Título anormal do FAN por imunofluorescência ou método equivalente em qualquer momento, na ausência de drogas sabidamente associadas ao lúpus induzido por drogas

Para fins de classificação de doença, o (a) paciente deve apresentar ao menos 4 dos 11 critérios.

ANEXO 2

The Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI)

(GLADMAN, D. D. ET AL., 1997)

Sintomas devem estar presentes na consulta ou até 10 dias antes da mesma.

Descritor	Definição	Escore
Convulsão	De início recente. Excluir causas metabólicas, infecciosas ou por drogas	8
Psicose	Distúrbio de percepção da realidade com prejuízo da atividade normal: Inclui alucinações, incoerência, perda da capacidade de fazer associações, desorganização do pensamento, pensamentos sem lógica, comportamento bizarro, desorganizado ou catatônico. Excluir uremia ou causados por drogas.	8
Doença cerebral orgânica	Alterações de funções mentais, memória ou outras funções intelectuais de início rápido e com aspectos clínicos flutuantes. Inclui flutuações no estado de consciência, incapacidade de manter de focalizar ou manter a atenção e, pelo menos, mais dois dos seguintes itens: distúrbios de percepção, fala incoerente, insônia ou sonolência durante o dia, aumento ou diminuição da atividade psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas e por drogas.	8
Alteração visual	Alterações retinianas do LES. Inclui corpúsculos citóides, hemorragia retiniana, exudatos serosos ou hemorrágicos na coróide, neurite ótica. Excluir alterações causadas por infecções, drogas e hipertensão.	8
Nervos cranianos	Neuropatia sensorial ou motora de nervos cranianos de início recente	8
Cefaléia pelo LES	Cefaléia severa e persistente. Pode ter características de enxaqueca. Não deve responder a analgésicos e narcóticos	8
Cerebrovascular	Acidente vascular cerebral de início recente. Excluir arteriosclerose	8
Vasculite	Ulceração, gangrena, nódulos dolorosos nos dedos, infarto periungueal, hemorragias em estilhaço, ou vasculite provada por biópsia ou angiografia.	8
Artrite	Mais do que 2 articulações com sinais inflamatórios	4
Miosite	Fraqueza ou dor em musculatura proximal associada a aumento de CK e/ou aldolase ou eletromiografia sugestiva de miosite	4
Cilíndros	Hemáticos ou granulares	4
Hematúria	(>5 eritrócitos/campo) Excluir cálculo, infecção ou outra causa	4
Proteinúria	(> 0,5g/24h) De aparecimento recente ou aumento de mais do que 0,5g/24h.	4
Piúria	(>5 leucócitos/campo). Excluir infecção	4

Rash	De início recente ou recorrência	4
Alopécia	De início recente ou recorrente. Pode ser difusa ou em placas	4
Lesão de mucosa	De início recente ou recorrência de lesões em mucosa oral ou nasal.	4
Pleurite	Dor pleurítica com atrito ou derrame pleural ou espessamento pleural	4
Pericardite	Dor sugestiva mais um dos seguintes itens: atrito, derrame, alterações eletrocardiográficas, alterações ecocardiográficas.	4
Complemento baixo	Diminuição de C3, C4 ou CH50.	2
Aumento do anti- DNA	>25% de ligação pelo teste de Farr ou acima do valor normal preconizado pelo laboratório.	2
Febre	>38°C. Excluir infecção	1
Trombocitopenia	<100.000/mm ³	1
Leucopenia	< 3.000/mm ³ Excluir as causadas por drogas	1

ANEXO 3

MEDIDA DO SLICC/ACR DI - adaptado de (SILVA et al., 2008)

Assinalar as alterações irreversíveis, não relacionadas com inflamação ativa, que surgiram após o diagnóstico de LES e que estão presentes há pelo menos 6 meses.

OCULAR:

Catarata documentada por oftalmoscopia

1.....

Lesão retiniana OU atrofia óptica

1.....

NEUROPSIQUIÁTRICA:

Déficit cognitivo (alteração da memória, dificuldade no cálculo matemático, na concentração, na linguagem falada ou escrita, diminuição do nível de performance) OU psicose major

1.....

Epilepsia com necessidade de terapêutica >6 meses

1.....

AVC (score 2 se >1x) ou ressecção cirúrgica não devida a neoplasia

1 (2).....

Neuropatia craniana ou periférica (exclui nervo óptico)

1.....

Mielite transversa

1.....

RENAL:

Clearance de creatinina estimada ou medida < 50%

1.....

Proteinúria ≥ 3,5g/24h

1.....

Insuficiência renal terminal (diálise ou transplante)

3.....

PULMONAR:

Hipertensão pulmonar

1.....

Fibrose pulmonar (clínica e Rx)

1.....

“Shrinking lung” (pulmão encolhido) (Rx)

1.....

Fibrose pleural (Rx)

1.....

Infarto pulmonar (Rx) ou ressecção não devida a neoplasia

1.....

CARDIOVASCULAR:

Angina ou by-pass coronário

1.....

Enfarte do miocárdio (score 2 se >1x)

1 (2).....

Cardiomiopatia (disfunção ventricular com tradução clínica)

1.....

Doença valvular (sopro sistólico ou diastólico >3/6)

1.....

Pericardite com duração superior a 6 meses ou pericardectomia

1.....

VASOS PERIFÉRICOS

Claudicação com duração superior a 6 meses

1.....

Perda de substância minor (polpas digitais)

1.....

Perda de substância major (dedo/ membro) (score 2 se >1 local)

1 (2).....

Trombose venosa com tumefação, ulceração ou estase venosa

1.....

GASTROINTESTINAL

Infarto GI ou ressecção intestinal abaixo do duodeno, baço, fígado ou vesícula, qualquer que seja a causa (score 2 se >1 local)

1 (2).....

Insuficiência mesentérica

1.....

Peritonite crônica 1

1.....

Estenose esofágica ou cirurgia do trato gastrointestinal superior

1.....

Pancreatite crônica (Insuficiência pancreática exócrina ou pseudocisto)

1.....

MÚSCULO-ESQUELÉTICAS

Atrofia ou fraqueza muscular

1.....

Artrite deformante ou erosiva

1.....

Osteoporose com fratura ou colapso vertebral

1.....

Necrose avascular (score 2 se >1 local)

1 (2).....

Osteomielite

1.....

Ruptura de tendão

1.....

PELE

Alopecia crônica cicatricial

1.....

Cicatriz extensa ou paniculite excetuando couro cabeludo e polpas digitais

1.....

Ulceração cutânea (não devido a trombose) por mais de 6 meses

1.....

INSUFICIÊNCIA GONADAL PREMATURA (< 40 anos)

1.....

DIABETES independentemente da terapêutica

1.....

NEOPLASIA (exclui displasia) (score 2 se >1 local)

1 (2).....

especificar _____

Total:

Total: (0-49)

ANEXO 4

PLATAFORMA BRASIL – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Concentrações séricas de lectina ligante de manose em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico: Associação clínico-laboratorial

Pesquisador: Renato Mitsunori Nisihara

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 32628814.0.0000.0103

Instituição Proponente: Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 726.051

Data da Relatoria: 22/07/2014

■ Assistentes

CPF	Nome
044.296.389-00	JULIANA ZIMMERMAN CIESLINSKI SOARES

■ Equipe de Pesquisa

CPF	Nome
37311433991	Iara Jose de Messias Reason
31687075972	Shirley Ramos da Rosa Utiyama
22189424968	Thelma Larocca Skare

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não há.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba, de acordo com as atribuições definidas na Resolução 466/12 CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da pesquisa.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento do projeto, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

SOCIEDADE EVANGÉLICA
BENEFICENTE DE CURITIBA -
PR



Continuação do Parecer: 726.051

CURITIBA, 23 de Julho de 2014

Assinado por:
Carmen Australia Paredes Marcondes Ribas
(Coordenador)